

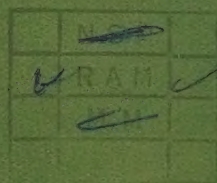
biologia plantarum

ACADEMIA SCIENTIARUM BOHEMOSLOVENICA

TOMUS III

4

PRAHA 1961



biologia plantarum

Časopis pro experimentální botaniku
Journal for Experimental Botany
Журнал экспериментальной ботаники
Zeitschrift für experimentelle Botanik

Hlavní redaktor akademik B. Němec

Redakční rada: akademik C. Blattný, J. Brčák, I. Cetl, A. Činčarová,
I. Hršel, K. Hrubý, J. Kloz, Z. Landa, M. Luxová, akademik S. Prát,
V. Rypáček, B. Slavík, výkonný redaktor, M. Sosna

Za překlady zodpovídají: G. Färber, A. Ridesová,
J. B. Rodendorfová, M. Vilbrová

Editor-in-Chief: B. Němec, Member of the Czechoslovak Academy
of Sciences

Editorial Board: C. Blattný, Member of the Czechoslovak Academy of
Sciences, J. Brčák, I. Cetl, A. Činčarová, I. Hršel, K. Hrubý, J. Kloz,
Z. Landa, M. Luxová, S. Prát, Member of the Czechoslovak Academy
of Sciences, V. Rypáček, B. Slavík, Editorial Secretary, M. Sosna

Foreign Language Editors: G. Färber, A. Ridesová,
J. B. Rodendorfová, M. Vilbrová

Главный редактор академик Б. Немец

Редакционный совет: академик Ц. Блаттны, Я. Брчак, И. Гршел,
К. Грубы, И. Клоз, З. Ланда, М. Луксова, академик С. Прат,
В. Рыпачек, Б. Славик, ответственный редактор, М. Сосна, И. Цетл,
А. Чинчарова

Переводы на иностранные языки: М. Вильброва,
А. Ридесова, Е. Б. Родендорф, Г. Фербер

Hauptredakteur: B. Němec, Mitglied der Tschechoslowakischen
Akademie der Wissenschaften

Redaktionsrat: C. Blattný, Mitglied der Tschsl. Akademie d. Wissenschaften,
J. Brčák, I. Cetl, A. Činčarová, I. Hršel, K. Hrubý, J. Kloz, Z. Landa,
M. Luxová, S. Prát, Mitglied der Tschsl. Akademie d. Wissenschaften,
V. Rypáček, B. Slavík, Redaktionssekretär, M. Sosna

Redaktion der fremdsprachigen Übertragungen: G. Färber,
A. Ridesová, J. B. Rodendorfová, M. Vilbrová

BIOLOGIA PLANTARUM

TOMUS

3

ACADEMIA SCIENTIARUM BOHEMOSLOVENICA

PRAHA 1961



INDEX

BATYUK, V. P. see OKANENKO, A. S.	
BLATTNÝ, C.: La variabilité du niveau du virus de la jaunisse chez <i>Allium ampeloprasum</i>	34
BRČÁK, J.: Biologische und elektronenmikroskopische Bestimmung der schweren Strichkrankheit der Tomate	285
BRČÁK, J.: Transmission of <i>Marmor cichorii</i> Kvíčala to <i>Chenopodium giganteum</i> DON	215
BRČÁK, J., HRŠEL, I.: The Electron Microscopic Examination of Inclusions Cucumber Virus 4	132
BUKOVAC, M. J., DAVIDSON, H.: Absorption and Distribution of Sodium, Phosphorus Chlorine, Calcium and Zinc in Some Selected Woody Ornamentals	39
Вереш, К. see Хвойка, Л.	
DAVIDSON, H. see BUKOVAC, M. J.	
DESHPANDE, K. B.: Antagonism Between <i>Rhizoctonia solani</i> KÜHN and Certain Saprophytes: A Laboratory Study	192
Долежалова, М., Поздена, И.: К вопросу образования мозаики табака у помидоров при выращивании их в условиях резкого колебания температуры	265
DVOŘÁK, J.: Formation of Secondary Xylem in Apricots (<i>Prunus armenica</i> L.) without the Participation of Buds	99
GRODZINSKY, D. M. see OKANENKO, A. S.	
GICHNER, T.: The Activity of Trypsin-Inhibitor in Seeds of Some Varieties and Species of Soyabeans and Correlation Between the Activity of Trypsin Inhibitor and Content of Oil	305
HOŘAVKA, B.: Microphotography of Phases in the Development of Apple Flower Buds	137
HRABĚTOVÁ, E., TUPÝ, J.: Respiration of Apple Pollen on Different Sugar Substrates and the Problem of the Role of Sucrose in Pollen-Tube Growth	270
HRŠEL, I. see BRČÁK, J.	
HRŠEL, I., WOLFOVÁ, B., MOHELSKÁ, H.: Electron Microscopic Investigation of Cytoplasm of Scutellar Cells of a Young Wheat Embryo	126
HRUBÝ, K.: Inheritance of Some Leaf Characters in <i>Salvia nemecii</i> Hbý	75
KLOZ, J.: The Use of Quantitative Ring Precipitation of Determining the Intensity of Cross Reactions	217
KLOZOVÁ, E., ROKOSOVÁ, K.: Antocyanins of <i>Impatiens holstii</i>	291
KONĚTOPSKÝ, A.: The Size of Guard Cells of Stomata of a Natural Polyploid Series of the Genus <i>Triticum</i> L.	115
Козел, Я. see Хвойка Л.	
KREKULE, J.: The Length of the first Leaf-Blade of Winter-Wheat is not an Indicator of Vernalization	85
KREKULE, J.: Application of Some Inhibitors in Studying the Physiology of Vernalization	107
KREKULE, J.: The Effect of Photoperiodic Régime on Vernalization	180

LIMBERK, J.: Abhängigkeit der Reproduktion des Tabakmosaik-Virus von den Veränderungen der Lage der Wachsenden Triebe	297
MAKOVCOVÁ, O., VACULÍK, P.: Untersuchungen über die Wirkung einiger 1,2,4-Triazol-derivate auf das Wachstum der Keimlinge von <i>Sinapis alba</i> L.	89
MOHELSKÁ, H. see HRŠEL, I.	
MUSIL, M.: Transmission of the Clover Phyllody virus by means of the Leafhopper <i>Euscelis plebejus</i> (Fallen)	29
NÁTR, L., ŠPIDLA, J.: Application of the Leaf-Disk Method to the Determination of Photosynthesis in Cereals	245
NĚMEC, B.: Über mixoploide Wurzelspitzen	253
Нечас, Ы.: Наследственность ветвистости колоса ржи сопровождаемой умножением цветков и частей цветков	65
OKANENKO, A. S., GRODZINSKY, D. M., BATYUK, V. P.: Respiration of Sugar-Beet Leaves during Illumination, with Simultaneous Photosynthesis	169
PETRŮ, E., ŠESTÁK, Z.: Disinfection of Kernels and its Influence of the Growth and Photosynthesis of Maize Seedlings	148
Поздена, И. see Долежалова, М.	
PRŮŠA, V. see VACKE, J.	
ROKOSOVÁ, K. see KLOZOVÁ, E.	
SEIDLOVÁ-BLUMOVÁ, F.: Abnormities in the Inflorescence of <i>Triticum aestivum</i> after a Photoperiodic Treatment at Different Stages of Ontogeny	156
SEIDLOVÁ-BLUMOVÁ, F.: On the Determination of the Course and Termination of Photoperiodic Sensitivity in Spring Wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.)	234
ŠESTÁK, Z. see PETRŮ, E.	
ŠPIDLA, J. see NÁTR, L.	
TUPÝ, J. see HRABĚTOVÁ, E.	
TUPÝ, J.: Changes in Glucose and Fructose Level in <i>Nicotiana glauca</i> Styles and Ovaries Accompanying Compatible and Incompatible Pollen Tube Growth	1
TUPÝ, J.: Investigation of Free Amino-acids in Cross-Self-, and Non-pollinated Pistils of <i>Nicotiana glauca</i>	47
Хвойка, Л.: Влияние плодов на осмотическое давление клеточного сока листьев и закладку цветочных почек у яблони	15
Хвойка, Л., Вереш, К., Козел Я.: Влияние кининов на рост почек яблони и на включение P ³²	140
UHLÍK, J.: A Method of Rapid Examination of Meiosis in Fruit-Trees	200
UHLÍK, J.: The Cytological Evaluation of Some Pear-Sorts Cultivated in Czechoslovakia	205
ÚLEHLA, J.: The Effect of Decreasing Soil Moisture on the Water Economy of Sunflower Seedlings	312
ULRYCHOVÁ, M., BLATNÝ, C.: L'action synergique de la Simazine et des viroses de plantes en tant que méthode de la détection éventuelle des maladies à virus	122
VACKE, J.: Wheat Dwarf Virus Disease	228
VACKE, J., PRŮŠA, V.: Host Range of Wheat Striate Virus	277
VACULÍK, P. see MAKOVCOVÁ, O.	
WOLFOVÁ, B. see HRŠEL, I.	

Über mixoploide Wurzelspitzen

BOHUMIL NĚMEC*

Eingegangen am 25. 11. 1960

Prof. Dr. Ernst Georg Pringsheim — Göttingen — zu seinem achtzigsten Geburtstag gewidmet

O mixoploidních vrcholech kořenů

Účinkem roztoku chloralhydrátu na dělicí se buňky zastaví se mitózy a vzniknou-li v buňkách dvě jádra, přiloží se k sobě a splynou. To mohl pozorovat na živých buňkách účinkem alkaloidů F. MAINX. Splynutím jader vznikají polyloidní jádra se znásobeným počtem chromosomů. V intervalech, ve kterých se chloralizované kořeny zotaví, lze je několikrát po sobě chloralizovat a tak lze dosáhnout jader s vysoce polyploidním počtem chromosomů (až $64n$). Na nich vznikají kořeny postranní silně mixoploidní a bylo dosaženo téměř čistě polyloidních kořenů, např. ve vrcholu 2 mm dlouhém na podélném řezu 69 diploidních a 263 polyploidních buněk. Jestliže polyploidní buňky nevzniknou v zóně iniciál, přejdou dříve nebo později do trvalého pletiva. Udrží se jen, pokud vznikly v zóně iniciál, načež mohou při dalším vývoji kořenů vytvořit pruhy, sektory nebo pláště polyploidních buněk. Zdá se, že u bobu (*Vicia faba*) je několik ras, v jedné se udržuje přibližně stálý počet buněk nebo vrstev (eutelie), v jiné tvar (eumorfie), velikost (eumetrie), po případě přijímají chloralizované kořeny tvar nepravidelný (amorfie). Polyploidní buňky mohou z meristému kořenového vrcholu různým způsobem vymizet. Jednak mohou, jsou-li vysoce polyploidní, odumřít, být rozmačkány a nahrazeny diploidními buňkami. Nebo mohou předčasně zastavit dělení a přejít ve stav trvalý. Někdy však celé polyploidní, po případě mixoploidní pruhy buněk nebo sektory mohou být odděleny od diploidních tkání poněkud ztlustlými, slabě zdřevnatělými a zkorkovatělými blanami. Tyto rozmanité pochody vylučují nebo oddělují z meristému polyploidní buňky, ač se to neděje vždy pravidelně a zákonitě. Je však zřejmo, že v mixoploidním vrcholu kořenovém mohou působit vysoce polyploidní buňky jako cizí součásti, které mohou být z jeho růstové a utvářející činnosti vyloučeny. Polyploidní buňky mohou snížit svůj počet chromosomů multipolárními mitosami. Vlivem některých chemických činitelů i v diploidních buňkách mohou být vybavena multipolární dělení jaderná (J. BLAŽEK 1902).

* Adresse: Prof. Dr. Bohumil Němec, Mitglied der Čechoslov. Akademie der Wissensch. Praha-Smíchov, Na Václavce 1138.

Einleitung. Kernverschmelzungen wurden lange Zeit als spezifische Vorgänge für den Befruchtungsvorgang betrachtet. Dann wurden jedoch Fälle entdeckt, bei denen Kernverschmelzungen in rein vegetativen Zellen vor sich gehen, beispielsweise im Endospermgewebe (STRASBURGER 1890, TISCHLER 1900) und in Tapetenzellen. Ich habe sodann darauf hingewiesen, dass durch Einwirkung äusserer Faktoren zweikernige vegetative Zellen entstehen können, in denen die Kerne hernach zu verschmelzen vermögen (NĚMEC 1902—1904, 1904). Für solche Versuche sind Wurzelspitzen sehr gut geeignet, die gewöhnlich zahlreiche Mitosen enthalten, die man mit Hilfe äusserer Faktoren leicht einstellen kann, worauf aus der Verschmelzung der längsgespaltenen Chromosomen, oder aus Tochterkernanlagen oder der beiden rekonstruierten Tochterkerne polyploide Kerne entstehen. Sie bewahren ihre neu gewonnene Chromosomenzahl auch bei ihren weiteren Mitosen. Diese Befunde habe ich durch weitere Experimente bestätigen und erweitern können.

Meine Angaben über die Einwirkung des Chloralhydrates wurden nachuntersucht und bestätigt. Wenn der Ursprung der Polyploide anfangs vielleicht zuweilen bezweifelt wurde, konnte ich später die Arbeit von F. MAINX (1919/20) als Bestätigung anführen, der den gesamten Verlauf der Mitosestörung, der Entstehung von zweikernigen Zellen sowie der Verschmelzung der beiden Tochterkerne in der lebenden Zelle unter dem Mikroskope verfolgen konnte. Er liess schwache Lösungen verschiedener Alkaloide sowie deren Salze auf die Kernteilungen in den Staubfadenhaaren von *Tradescantia pilosa* einwirken. Bald nach dem Zusetzen des Giftes verschwand die Kernspindel, die Chromosomen quollen auf und nahmen eine glasige Beschaffenheit an. „Nach circa 30 Minuten waren die Chromosomen grösstenteils miteinander verschmolzen. War nun das gestörte Stadium ein Diaster, so lagen jetzt in einer Zelle zwei Kerne, da der Prozess der Zellteilung sofort mit dem Einsetzen der Vergiftung zum Stillstand kam. Im letzten Falle bewegten sich nun die zwei Kerne aufeinander zu, lagerten sich nahe aneinander und erwiesen sich bei den meisten Fällen, die untersucht worden waren, nach 24 Stunden wieder zu einem Kerne verschmolzen, der jetzt natürlich doppelwertig sein musste.“

Methodisches. Wenn mit Chloralhydrat behandelte Wurzelspitzen in nicht zu lange Intervallen fixiert werden, wie ich es in meiner Abhandlung 1904 beschrieben habe, so findet man das Stadium der Kernverschmelzung leicht. Aber daneben erscheinen verschiedene Abnormitäten, welche durch unregelmässige Trennung der Tochterchromosomen oder ihr Zusammenkleben, Karyomerenbildung usw. verursacht werden. Meistens hat es keinen Sinn alle diese verschiedenen Unregelmässigkeiten zu beschreiben. Wichtig sind die Fälle, in denen sich jedes Chromosom zu einem Miniaturkerne rekonstruiert, wobei jeder einen Nucleolus enthält. Das beweist, dass die Nucleolenbildung nicht unter allen Umständen an bestimmte Chromosomen gebunden sein muss.

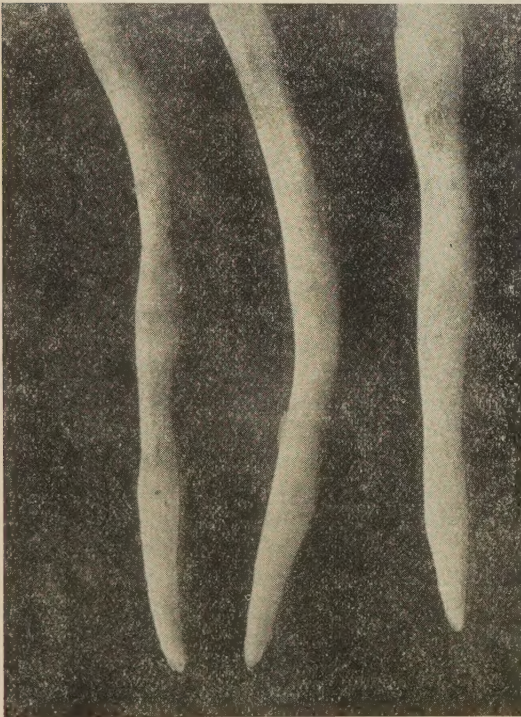
Einige Stunden nach dem Chloralisieren gesunden die Wurzelspitzen und nach 24 Stunden enthalten sie wieder zahlreiche, meist normale Mitosen. Man kann sie jetzt wiederum einer Chloralisierung unterwerfen. Durch weitere Kernverschmelzungen können 8n Kerne entstehen und der Vorgang kann noch wiederholt werden. Auf einem Längsschnitt durch eine solche Wurzelspitze kann beobachtet werden, dass ihre älteste Zone neben diploiden auch tetraploide Kerne enthält. Näher der Spitze zu folgt eine Zone, welche auch schon oktoploide Kerne enthält und dann die Jüngste mit hexakaidekaploiden Kernen (Taf. Fig. 9).

Diploidisierung. Lässt man solche mixoploide Wurzeln sich weiter entwickeln, so verschwinden die polyploiden Mitosen aus denselben meist all-

mählich, ausgenommen einige wenige Wurzeln, deren meristematische Initialen polyploid geworden sind. Das lässt sich am besten an Wurzeln sehen, die eine einzige Terminalzelle besitzen. Ich habe mit *Equisetum limosum* solche Versuche angestellt. Die Adventivwurzeln wachsen sehr gut im Wasser und lassen sich durch Kolchizin polyploidisieren. Wenn die Terminalzelle getroffen wird, sind die hinzugewachsenen Teile der Wurzel völlig polyploid. Meristematische Zellen, welche nicht Initialen sind, stellen mit der Zeit ihre Teilung ein, da sie in die Streckungs- und Dauerzone übertreten. So ist es begreiflich, dass einige mixoploid gewordene Wurzelspitzen früher oder später diploid werden können. Die Initialen teilen sich anscheinend ziemlich selten, daher werden sie durch Chloralhydrat oder ähnlich wirkende Agenzien nicht häufig polyploid. Überdies können polyploide Initialzellen durch diploide Nachbarzellen vertreten werden, wenn das Initialmeristem aus mehreren Zellen besteht. Auch das kann dazu beitragen, dass mixoploide Wurzelspitzen allmählich diploid werden können. In einmal chloralisierten Wurzelspitzen von *Pisum sativum* oder *Vigna catjang* fand ich für gewöhnlich nach 42 Stunden keine polyploiden Mitosen mehr.

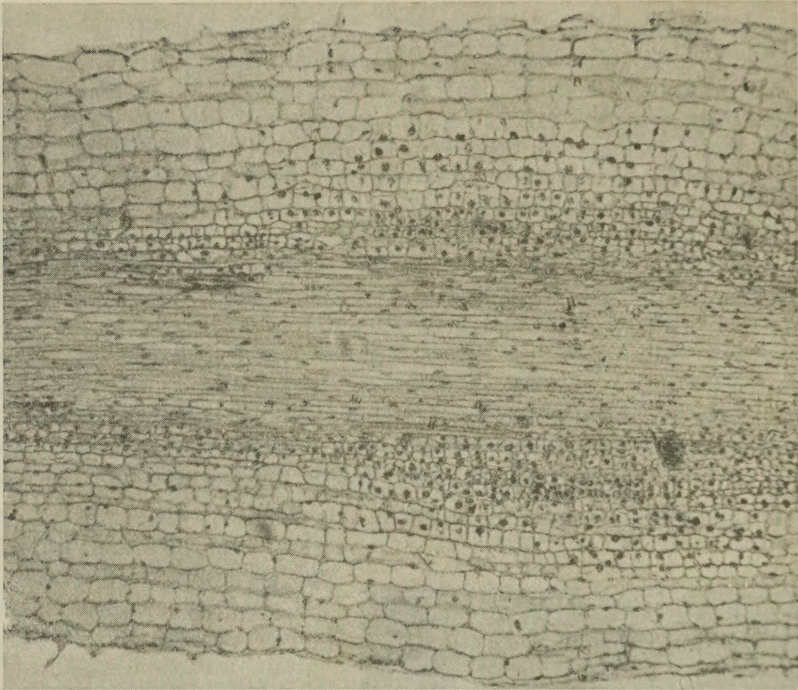
Entstehung mixoploider Seitenwurzeln. Da Mitosen aller Gewebeanlagen in

den Wurzelspitzen durch Chloralhydrat eingestellt werden können, so sind von dieser Beeinflussung auch Zellen des Perikambiums nicht ausgeschlossen. Dieses besteht aus ziemlich kurzen Zellen, was bedingt, dass in ihm Mitosen recht häufig verlaufen. Bei den meisten Phanerogamen ist es einschichtig und es wäre nicht ausgeschlossen, dass aus Gruppen polyploider Perikambiumzellen reine polyploide Seitenwurzeln entstehen könnten. Bei *Vicia faba*, mit welcher Pflanze ich viele Jahre gearbeitet habe, ist unter etlichen tausend untersuchten Seitenwurzeln keine einzige rein polyploide an einer durch Chloralisierung mixoploid gewordenen Mutterwurzel in Erscheinung getreten. Die Versuche wurden in der Weise angestellt, dass eine Keimwurzel nach mehrmaligem Chloralisieren dekapitiert und in feuchten Sägespänen weiter kultiviert wurde. Bald traten an der Keimwurzel üppig wachsende Seitenwurzeln in Erscheinung, deren Spitzen früher oder später abgeschnitten und fixiert wurden. Alle



Textfig. 1. Keimwurzeln von *Vicia faba*, die in Intervallen von 24 Stunden mit Chloralhydrat behandelt wurden. Jede besitzt drei Verdickungen

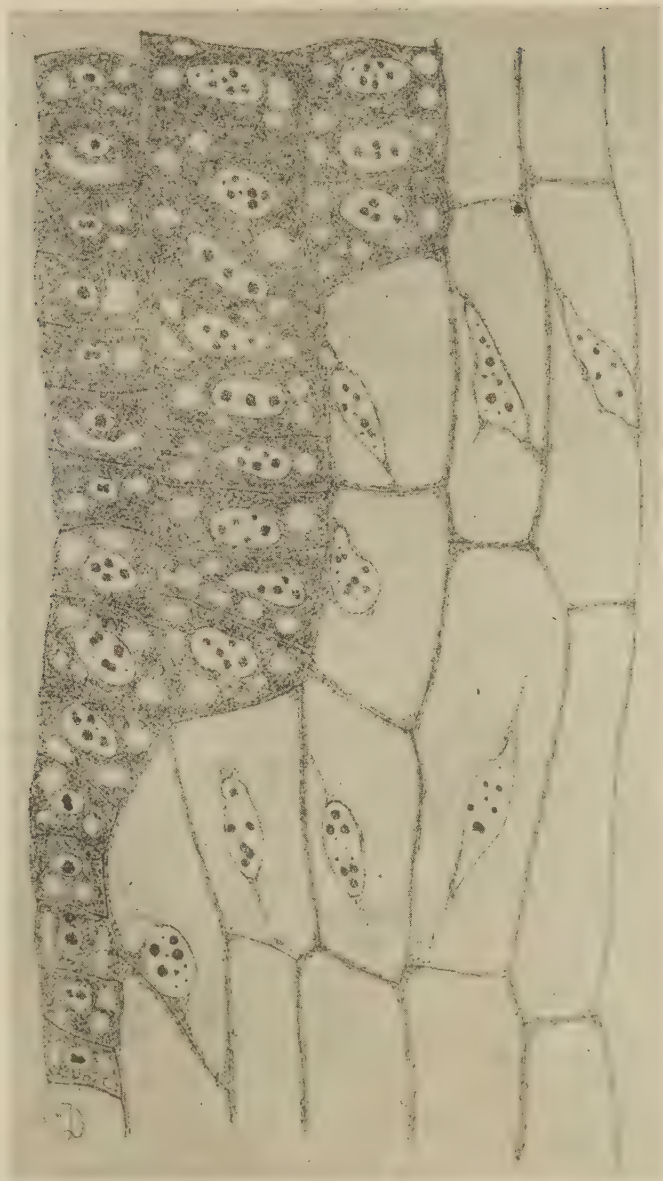
8 : 1.



Textfig. 2. Längsschnitt durch eine einmal chloralisierte Keimwurzel von *Pisum sativum*. Die Perikambialzellen haben sich mehrmals längsgeteilt. 130 : 1. Foto Dr. A. LUX.

waren mixoploid. Nur eine wurde gefunden, die fast nur aus polyploiden Zellen bestand. Auf einem zwei Millimeter langen Längsschnitt durch die Spitze wurden 69 diploide und 263 polyploide Zellen gezählt.

Schon in meiner ersten Arbeit über chloralisierte Wurzeln (NĚMEC 1904) machte ich darauf aufmerksam, dass an denselben gleich unter der meristematischen Zone eine Verdickung entsteht. Werden die Wurzeln mehrmals nacheinander chloralisiert, so entstehen mehrere Verdickungen (Textfig. 1). Eine mikroskopische Untersuchung erweist, dass die Verdickung von einer periklinalen Längsteilung der Perikambiumschichten eventuell auch der inneren Rindenschichten begleitet wird (Textfig. 2). Jedenfalls wird das Perikambium bei der Verdickung durch periklinale Teilungen noch mehrschichtiger, als es früher gewesen ist. Denn eben bei *Vicia faba* ist das Perikambium am Radius des Xylems dreischichtig. GUTTENBERG (1940) berichtet jedoch, dass die Seitenwurzelbildung dort, wo das Perikambium mehrschichtig ist, aus der äussersten Zellenlage in gleicher Weise vor sich geht, wie aus einem einschichtigen Perikambium (*Smilax*, manche Gramineen, Papilionazeen u. a.). Wenn die *Vicia*-Wurzel dekapitiert wird, treten Seitenwurzeln zuerst an den verdickten Zonen auffallend gehäuft in Erscheinung und es beteiligen sich mehrere Zellschichten an der Wurzelanlage. Darum ist die Wahrscheinlichkeit einer Entstehung rein polyploider Seitenwurzeln recht gering. Es wird



Textfig. 3. Aus dem Längsschnitt durch eine mixoploide Wurzelspitze von *Vicia faba*. Die äusseren polyploiden Zellschichten verlieren die Teilungsfähigkeit und eine neue Dermatogenschicht (D) differenziert sich im Periblem.

auch begreiflich, dass Inseln, Sektoren oder Längsreihen polyploider Zellen entstehen können. Man kann solche mixoploide Seitenwurzeln als ein Mosaik diploider und polyploider Zellen und Gewebe ansehen. Allmählich können jedoch polyploide Zellreihen aus der Wurzelspitze ausgeschieden werden. Es wurde schon erwähnt, dass einige polyploide Initialen aus der weiteren Teilung ausgeschieden werden können. Am häufigsten geschieht das, wenn sich die

polyploiden Initialen am Rande des Transversalmeristems befinden und wenn sie das Dermatogen oder noch einige Schichten des äusseren Periblems bilden. An Längsschnitten sieht man, dass von einem gewissen Zeitpunkt an diese Zellen aufhören sich zu teilen, sich jedoch bedeutend verlängern und cytoplasma-arm werden. Eine diploide unter den polyploiden Zellen befindliche Periblemschicht wird zu neuem Dermatogen. Dasselbe wird gewissermassen unter die polyploiden Schichten verlegt (Textfig. 3). Ein solcher Fall ist auch an der Tafelfigur 1 an der linken Flanke zu sehen. Auf Querschnitten ist dieser Vorgang ebenfalls nicht selten zu beobachten. Vergleicht man Querschnitte, die in einer gewissen Entfernung, aber doch noch in der meristematischen Zone durchgeführt werden, mit solchen, die näher am Wurzelmeristem liegen, lässt sich nicht selten beobachten, dass derselbe Sektor oder Zellstreifen, welcher auf den ersten Querschnitten meristematischen Charakter trug, auf den weiteren plasma-arm und zuweilen auch geschrumpft erscheint (Taf. Fig. 7, 8). Das ist auch die Ursache, weshalb das Dermatogen auf Querschnitten nicht immer kreisförmig oder ellipsoid verläuft, sondern unregelmässige Einbuchtungen aufweist. Die polyploiden Zellen, welche ihre Teilungsfähigkeit eingebüsst haben, machen den Eindruck lateraler Haubenzellen (Textfig. 3). Die von ihnen gebildeten Schichten können sich vorzeitig von der Wurzel ablösen (Taf. Fig. 2). An tangentialen Längsschnitten erscheinen solche vorzeitig in den Dauerzustand übergegangene Zellreihen als plasma-arme, bedeutend verlängerte, zwischen plasmareichen Sektoren liegende Zellstreifen (Taf. Fig. 10).

Struktur und Gestalt der mixoploiden Seitenwurzeln. Vergleicht man mixoploide Wurzelspitzen, die hoch polyploide Zellen enthalten, mit normalen, durchweg diploiden, so fällt es häufig auf, dass die Zellen der polyploiden Inseln oder Sektoren unregelmässig gestaltet und angeordnet sind (Taf. Fig. 1). Offenbar nehmen schon die neu entstehenden Scheidewände in den grossen polyploiden Zellen keine Richtungen ein, die den orthogonalen Trajektorien entsprechen. Wahrscheinlich kommt es auch bei ihrem weiteren Wachstum zu Druck und Zug, einige Zellen werden zusammengequetscht und getötet. In manchen mixoploiden Wurzelspitzen liessen sich abgestorbene Zellen, ja ganze Zellschichten beobachten. Zuweilen fand ich auch Zellen, welche ohne zerdrückt zu werden abgestorben waren. Ihr Inhalt war grobkörnig fixiert und färbte sich stark mit Heidenhains Haematoxylin. Ihrer Grösse nach konnte auf eine hohe Polyploidität geschlossen werden. Zuweilen wurden äussere polyploide Schichten durch solche abgestorbenen Schichten von inneren meristematischen abgegrenzt. Derartige Erscheinungen machen jedoch keinen Eindruck der Gesetzmässigkeit, sie scheinen eher gelegentlicher Natur zu sein.

Eher lässt sich an eine Gesetzmässigkeit bei der Abtrennung von polyploiden Zellengruppen oder -sektoren durch ein wenig verdickte und schwach verkorkte Zellwände denken. Taf. Fig. 5 zeigt die Aufnahme einer Wurzelspitze, bei der ein Sektor an der linken Flanke durch eine stärker gefärbte und verdickte Zellwand abgeschieden ist. Die Abgrenzung verläuft durch die Wurzelhaube und das Initialmeristem bis ins Periblem der Wurzelspitze und grenzt die polyploiden Zellen der linken Flanke vom diploiden Gewebe ziemlich gut ab. An der rechten Flanke gibt es nur zwei oder drei polyploide Zell-

schichten, die sich jedoch meist schon im Dauerzustand befinden. Auf einem Querschnitte durch eine solche Wurzelspitze verläuft die Trennungsschicht annähernd bogenförmig und grenzt meist polyploide Zellen vom übrigen diploiden Wurzelgewebe ab. Zuweilen werden auch einige diploide Zellen mitgenommen. Die Verdickung und stärkere Färbbarkeit erscheint zunächst in den Zwickeln der Zellen, sie verbreitet sich und vereinigt sich zu einer durchlaufenden Trennungswand. Immerhin findet man den Vorgang nur vereinzelt, aber es ist kein zufälliger Vorgang, er hängt mit der Mixoploidie zusammen und scheidet die hochpolyploiden Sektoren oder Streifen von der weiteren Teilnahme am meristematischen Wachstum der betroffenen Wurzelspitzen aus.

Wir haben gesehen, dass mixoploide Seitenwurzeln grosse Unregelmässigkeiten in der Anordnung ihrer Zellen aufweisen können (Taf. Fig. 1). Ich habe anfangs mit einer Rasse von *Vicia faba* gearbeitet, deren Wurzelspitzen diesen inneren Regellosigkeiten zum Trotz eine normale äussere Gestalt besaßen. Als ich dann später mit anderen Rassen arbeitete, kamen häufig mixoploide Wurzelspitzen vor, welche auch äussere Unregelmässigkeiten neben denen der inneren Zellenanordnung aufwiesen (Taf. Fig. 7, 8). Es zeigte sich bald, dass diese mit der Mixoploidie ursächlich verbunden waren. Wenn ich ursprünglich zum Schlusse gekommen war, dass es für die Pflanzen gewissermassen gleichgiltig ist, in wieviele Zellen ihr lebendiger Inhalt geteilt ist, wozu mich auch Wurzelspitzen verleiteten, wie sie in meinem Buche 1910 in Figur 52 abgebildet sind, so erkannte ich jetzt, dass dies lediglich für einige Rassen zutrifft und auch bei diesen nur bis zu einem gewissen Grade. Schon bei Lupenuntersuchung lassen sich an manchen Wurzelspitzen Unregelmässigkeiten erkennen. An mixoploiden Seitenwurzeln verlaufen häufig deutliche, verschieden tiefe Rinnen und verschieden hohe (vorstehende) Rippen. Auf Querschnitten durch solche Wurzeln gewahrt man, dass es sich immer um mixoploide Wurzeln handelt. Ich verweise auf vier Querschnitte, die ich hier veröffentliche. In der Wurzelspitze auf Taf. Fig. 3 ist die rippenförmige Verdickung dadurch verursacht worden, dass ein Sektor aus grossen polyploiden Zellen besteht, die bis in das Dermatogen reichen. Starke Rippen entstehen also bei dieser Rasse, wenn polyploide Zellen am betreffenden Sektor bis in das Dermatogen reichen. Auch hier bestätigt sich die Erfahrung, dass in Chimären artfremder Pflanzen die äussere Gestaltung hauptsächlich von der Epidermis abhängig ist. Das lässt sich auch an der Wurzelspitze beobachten, von der die zwei Querschnitte auf Tafel Fig. 7 und 8 stammen. Das Perilem besteht meist aus verschieden hoch polyploiden Zellen, rippenförmige Verdickungen erscheinen an Sektoren, deren Dermatogen auch polyploid ist. Die Wurzelspitze, von welcher der Querschnitt auf Tafel Fig. 4 her stammt, bestand hauptsächlich aus polyploiden Zellen. Wo die Sektoren aus diploiden Zellen bestanden, mag es sich auch nur um eine einzige Schicht gehandelt haben, welche bis ins Dermatogen reichte, gab es eine Rinne. Schliesslich besass ich eine Sippe, bei der mixoploide Seitenwurzeln aus verschieden hoch polyploiden Zellen bestanden und regellos im Querschnitt deformiert erschienen.

Ich erkläre mir die Verschiedenheit der äusseren Gestalt der Wurzelspitzen so, dass die äussere Gestalt bei der ersten Rasse fest bestimmt ist, sodass

ich diese Sippe als eumorphisch bezeichnen möchte. Die Wurzelspitzen behalten ihre äussere Form trotz der Mixoploidie der Gewebe (Taf. Fig. 1). Bei der zweiten Rasse ist die Zahl der Zellschichten genetisch annähernd bestimmt. Ich bezeichne sie als eutelisch. Natürlich ist die Zahl der Zellen und Zellschichten nur annähernd bestimmt und sicher auch von anderen Umständen abhängig, unter anderem von der Ploidie des Dermatogens. Die Rasse, bei der die Chloralisierung zu regelloser Gestalt und Anordnung der Zellen führt, möchte ich amorph nennen. Schliesslich scheint es mir Rassen zu geben, deren Grösse — natürlich unter bestimmten äusseren Bedingungen — festgelegt ist. Das wären eumetrische Rassen.

Chromosomenreduktion. Die letzte Möglichkeit eines Verschwindens polyploider Zellen aus mixoploiden Pflanzen während ihrer Entwicklung bietet die Chromosomenreduktion.

In meiner Arbeit über chloralisierte Wurzeln (NĚMEC 1904) habe ich dieselbe schon ausführlich behandelt und schrieb in der Zusammenfassung der Resultate auf p. 730: „Die Teilungen mit doppelter Chromosomenzahl verschwinden allmählich aus der Wurzelspitze; wahrscheinlich kommt dabei auch eine Reduktion der Chromosomenzahl vor“. Ich habe die Reduktion der Chromosomenzahl nur als wahrscheinlich angeführt, und dass dieselbe in irgendeiner Weise vor sich geht, hat sich später als sicher erwiesen. Schon WINKLER (1916, 1935) hat an seinen Gigaspflanzen beobachtet, dass sie gelegentlich zum diploiden Zustand zurückkehren können. Es vermögen zum Bsp. an ihnen Blätter in Erscheinung zu treten, deren eine Hälfte tetraploid, die ander aber diploid ist. Neulich wurde diese Rückkehr zur normalen Chromosomenzahl bei polyploiden Zuckerrüben beobachtet. Nach JÖRGENSEN (1928) bildete sich an einer hexaploiden Nachtschattenpflanze, die das Aussehen einer diploiden Pflanze hatte, ein triploider Zweig, der vielleicht aus hexaploiden, somatischen Zellen, in denen eine Reduktion der Chromosomen stattgefunden hat, entstanden ist (KAGAWA, 1937). Auch kann ich mich auf die Resultate von HUSKINS (1948) und HUSKINS-CHENG (1950) berufen. Ich gebe zu, dass meine Hypothese über eine direkte Reduktion nicht nachzuweisen ist — darum ist es ja auch bloss eine Hypothese — weshalb ich nicht weiter über dieselbe sprechen werde. Selbst habe ich in vegetativen polyploiden Zellen keine Mitosen gefunden, die sich als Meiosen hätten deuten lassen. Doch konnte ich mich schon 1910 auf eine von STRASBURGER (1907) dargestellte Figur berufen, in der die längsgespaltenen Chromosomen in zwei parallelen Ebenen zu zweien lagen, was in einer äquatorialen Chromosomenplatte sonst nicht vorkommt. Ich habe diese Figur als Stadium emer vegetativen, autoregulativen Chromosomenreduktion bezeichnet und halte an dieser Deutung trotz des späteren Einspruches von STRASBURGER fest. Wenn meine Deutung zutrifft, läge hier ein autoregulativer Vorgang vor, der durch eine zu grosse Chromosomenzahl hervorgerufen wäre.

Multipolare Mitosen. Eine solche Reduktion bekommt man bei höheren Pflanzen offenbar selten und nur gelegentlich zu sehen. Bei denselben sind Reduktionen durch multipolare Mitosen häufiger [Neuerdings wurden bei Schimmelpilzen häufiger somatische Reduktionen beobachtet (PONTECORVO, 1954)]. Dieselben kommen einmal in pathologischen Geweben vor, können das anderemal aber durch äussere chemische Faktoren auch in vegetativen diploiden Zellen hervorgerufen werden.

Schon im Jahre 1902 hat J. BLAŽEK in der Wurzelspitze von *Pisum sativum* multipolare Mitosen durch Benzoldämpfe hervorgerufen und hat sie beschrieben. Es sind die gleichen multipolaren Mitosen, die A. BARTHELMESZ 1957 mittels Einwirkung verdünnter wässriger Lösungen aliphatischer, einwertiger, gesättigter Alkohole hervorgerufen hat. Durch sie „entstehen mehrkernige bzw. nach Unterteilung durch Wände hypoploide Zellen in grosser Zahl und sehr bunter Variation der genomatischen Zusammensetzung.“ Dass durch solche Teilungen hypoploide Kerne oder Zellen entstehen können, hat schon KEMP (1910) und nach ihm BOYER (1914) betont. REINHOLD hat multipolare Mitosen in Karzinomen durch Röntgenstrahlen hervorgerufen; sie kommen aber auch ohne ihre Einwirkungen vor. BOYER hielt multipolare Mitosen

für die Ursache der Karzinombildung. Wie er ausführt, gibt es nämlich bei multipolaren Mitosen keine Garantie dafür, dass der ganze zur normalen Entwicklung nötige Chromosomensatz in die Tochterkerne gelangt. Es können Kerne mit unvollständigen Chromosomenzahlen entstehen, die sich weiter abnormal verhalten.

Ich habe multipolare Mitosen in Riesenzellen der Gallen von *Heterodera (Meloidogyne) radiculicola* beobachtet (NĚMEC, 1926). Die Riesenzellen enthalten zahlreiche Kerne, welche sich durch Mitosen vermehren. Später können sie zu Paaren oder zu mehreren zusammenfliessen, wodurch polyploide Kerne entstehen; neben denselben können jedoch in der Riesenzelle auch noch diploide Kerne übrigbleiben. Wenn sich nun in solchen Zellen die Kerne abermals teilen, was immer, soweit ich es verfolgen konnte, simultan geschieht, so sind die polyploiden Mitosen multipolar, die diploiden jedoch bipolar. TISCHLER (1915) gibt für Zuckerrübe an, dass diploide Mitosen 16 Chromosomen besitzen. Ich zählte in multipolaren Mitosen der Riesenzellen 24, 34, 36, 56, 116 Chromosomen. Offenbar handelte es sich um tetraploide und höher polyploide Kerne. Daneben gab es in derselben Zelle, die hoch polyploide Mitosen enthielt, auch noch diploide Kernteilungen. Da sich nur polyploide Kerne multipolar teilen, kann man daraus schliessen, dass ihre Multipolarität ursächlich mit der Polyploidie zusammenhängt. Diese Teilung ist nicht immer regelmässig, da die zugehörigen Schwesterkerne zuweilen ungleich gross sind. Durch die multipolare Mitose wird die Chromosomenzahl herabgesetzt, wenn auch nicht so regelmässig wie durch eine meiosenähnliche somatische Reduktionsteilung.

Multipolare Mitosen habe ich auch in mehrmals chloralisierten Wurzeln von *Pisum sativum* und *Vicia faba* gefunden. Es muss hervorgehoben werden, dass sie auch hier den Eindruck gelegentlicher Vorgänge machen. Sie kamen nur in mehrmals chloralisierten Keimwurzeln vor. Zunächst fand ich sie in Keimwurzeln von *Pisum sativum*, welche dreimal nach einander in Intervallen von 12 Stunden chloralisiert und 48 Stunden nach der letzten Behandlung fixiert wurden. Die mehrpoligen Mitosen sind nicht häufig, aber auf jedem Längsschnitt konnte man einige finden. Sie waren drei- oder vierpolig, die Schwesterkerne sind nicht immer gleich gross gewesen. Später habe ich auch in dreimal chloralisierten Keimwurzeln von *Vicia faba* multipolare Mitosen gefunden. Die Keimwurzeln wurden in Intervallen von 24 Stunden chloralisiert und 24 Stunden nach der letzten Behandlung fixiert. Multipolare Teilungen sind hier noch seltener als bei *Pisum* gewesen, auf jedem Längsschnitt wurde etwa eine gefunden. Sie sind drei- oder vierpolig gewesen, die vierpoligen schienen regelmässiger zu sein.

Zusammenfassend kann man also sagen, dass in mehrmals chloralisierten Wurzelspitzen von *Pisum sativum* und *Vicia faba* in polyploiden Zellen mehrpolige Mitosen gelegentlich vorkommen, welche Kernen mit herabgesetzter Chromosomenzahl Ursprung geben. Solche Mitosen können zum Verschwinden polyploider Zellen aus mixoploiden Wurzelspitzen beitragen. In derselben Richtung können auch andere Vorgänge, wie ich sie oben beschrieben habe, einwirken.

Schlussbemerkungen. Schon früher habe ich die Frage diskutiert, welche Ursache diese Vorgänge haben, die zur Ausscheidung polyploider Zellen aus mixoploiden Wurzelspitzen beitragen. Ich gab eine Erklärung, dass poly-

ploide (syndiploide) Zellen im Meristem als fremde Elemente wirken und dass dieser Umstand bewirkt, dass Vorgänge ausgelöst werden, welche schliesslich zur Entfernung polyploider Zellen aus den meristematischen Zuwachsteilen führen können. Alle die vorher beschriebenen Vorgänge sind jedoch nicht so regelmässig wie die Reduktion der Chromosomenzahl während der Sporogenese. Für die Entwicklungsmechanik liefern mixoploide Wurzelspitzen ein sehr gutes Versuchsmaterial. Die Stammspitzen sind viel komplizierter, aber ebenfalls lehrreich, wie SATINA, BLAKESLEE und AVERY gezeigt haben. Wenn mir DEYSSON (1956) vorwirft, dass ich einen Fehler begangen habe, wenn ich an eine Reduktion der Chromosomenzahl glaubte, so muss ich hervorheben, dass ich neben einer Reduktion (1921, 26) noch andere Vorgänge des Ausscheidens polyploider Zellen aus der Wurzelspitze beschrieben habe (1910).

Literatur

- BARTHELMESZ, A.: Chemisch induzierte multipolare Mitosen. — *Protoplasma*, **43** : 546—561, 1957.
- BARTHELMESZ, A. u. EINLECHNER, J.: Chemisch induzierte multipolare Mitosen V. — *Protoplasma* **51** : 325—337, 1959.
- BOVERI, TH.: Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. — Jena, 1914.
- BLAKESLEE, A. F.: Dédoublément du nombre de chromosomes chez les plantes par traitement chimique. — *C. R. Acad. Sc. Paris* **205** : 476—479, 1937.
- BLÁŽEK, J.: Über den Einfluss der Benzoldämpfe auf die pflanzliche Zellteilung. *Bull. int. de l'Acad. de Bohême*. 1902.
- FERNANDES ABÍLIO: La mixoploidie chez *Narcissus reflexus*. — *Brot. Boletim da Soc. Brot.* **11—12** : 25—42, 1936.
- GUTTENBERG, H. v.: Der primäre Bau der Angiospermenwurzel. — Berlin, 1940.
- JØRGENSEN, C. A. u. CRANE, M. B.: Formation and morphology of *Solanum chimaeras*. — *Journ. Gen.* **18** : 1927.
- JØRGENSEN, C. A.: The experimental formation of heteroploid plants in the genus *Solanum*. — *Journ. Gen.* **19** : 1928.
- HRUBÝ, K.: Ein neuer Fall von Mixoploide. *Mém. soc. r. Sci. Bohême. Cl. Sci.* **1—5**, 1933.
- HUSKINS, C. L.: Segregation and reduction in somatic tissues. — *Journ. Hered.* **39** : 311—325, 1948.
- HUSKINS, C. L. u. CHENG, K. C.: Segregation and reduction in somatic tissues. IV. — *Journ. Hered.* **41** : 13—18, 1950.
- KEMP, H. P.: On the question of the occurrence of heterotypical reduction in somatic cells. — *Ann. of Bot.* **24** : 775—803, 1910.
- KOSTOFF, D.: Irregularities in the mitosis and polyploidy induced by colchicine and acenaphthene. — *Doklady Akad. N. SSSR* **19** : 179—199, 1938.
- KÜSTER, E.: Experimentelle Zellforschung. 3. Aufl. Jena, 1956.
- LEVAN, A.: The effect of colchicine on meiosis in *Allium*. — *Hereditas* **25** : 9—26, 1939.
- LEVAN, A.: Cytological phenomena connected with the root swelling caused by growth substances. — *Hereditas* **25** : 1939.
- LEVAN, A. u. WANGENHEIM, K. H. v.: Potassium cyanide in the *Allium* test. — *Hereditas* **33** : 297—313, 1952.
- MAINX, F.: Einfluss der Alkaloide auf die Kernteilung. *Lotos* **67/68** : 43—44, 1919/20.
- MIDUNO TAMAMASA: Chromosomenstudien an Orchidaceen. I. Karyotyp und Mixoploidie bei *Cephalanthera* und *Epipactis*. — *Cytologia* **3** : 505—514, 1938.
- NAWASCHIN, M.: Variabilität des Zellkerns bei *Crepis*-Arten in Bezug auf die Artbildung. — *Zeitschr. f. Zellf. u. mikr. Anat.* **6** : 175—215, 1926.
- NĚMEC, B.: Über ungeschlechtliche Kernverschmelzungen I—IV. — *Sitzber. d. Kön. böhm. Ges. d. Wiss. Prag*, 1902—1904.

- NĚMEC, B.: Über die Einwirkung des Chloralhydrats auf die Kern- und Zellteilung. Jahrb. f. wiss. Bot. **39** : 645—730, 1904.
- NĚMEC, B.: Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andere zytologische Fragen. — Berlin, 1910.
- NĚMEC, B.: O hálkách hádátka *Heterodera radicolica* na cukrovce. (Über die Gallenbildungen des Aelchens *Heterodera radicolica* an der Zuckerrübe.) — Rozpr. Č. Akad. Tř. II. **46** : 1—4, 1921.
- NĚMEC, B.: Teilungsfiguren und vegetative Chromosomenreduktion. — Biol. gen. **2** : 1926.
- OSTERGREN, G.: Cytological standards for the quantitative estimation of spindle disturbances. — Hereditas **36** : 371—382, 1950.
- PONTECORVO, G.: Mitotic recombination in the genetic systems of filamentous fungi. Caryologia (Suppl.) : 192—200, 1954.
- RITTER, W. u. BAILEY, E. W.: The organismal conception. — Univ. Calif. Publ. in Zoology **31**, 14, 1928.
- SATINA, S., BLAKESLEE, A. F., AVERY, AMOS, G.: Demonstration of the Three layers in the shoot apex of *Datura* by means of induced polyploidy in periclinal chimaeras. — Amer. Journ. Bot. **27** : 162—165, 1940.
- STRASBURGER, E.: Zellbildung und Zellteilung. Jena, 1880.
- STRASBURGER, E.: Reduktionsteilung, Spindelbildung usw. — Hist. Beitr. 6. Jena, 1900.
- STRASBURGER, E.: Über die Individualität der Chromosomen und die Pffropfhybridenfrage. — Jahrb. wiss. Bot. **44** : 1907.
- THOMAS ANDRÉ: Les facteurs de la croissance cellulaire, activation et inhibition. Paris (DEYSSON, GUY, Les facteurs de la mitoinhibition végétale: 241—274) 1956.
- TISCHLER, G.: Untersuchungen über die Entwicklung des Endosperms und der Samenschale von *Corydalis cava*. Verh. mat. nat. Ver. Heidelberg N. F. VI., 1960.
- WEBBER, J. M.: Chromosome number and morphology in *Nicotiana* V. — Univ. Calif. Publ. Bot. **11** : 355—362, 1930.
- WINKLER, H.: Über die experimentelle Erzeugung von Pflanzen mit abweichenden Chromosomenzahlen. — Zeitschr. f. Bot. **8** : 417—531, 1916.
- WINGE, Ö.: Zytologische Untersuchungen über die Natur maligner Tumoren I. „Crown Gall“ der Zuckerrübe. — Zeitschr. f. Zellforsch. **6** : 1927.

Богумил Немец (Чехословацкая академия наук)

О миксополиплоидных верхушках корней

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (4) : 253—264, 1961

В результате воздействия раствором хлоралгидрата на делящиеся клетки останавливаются митозы и если в клетках возникнут два ядра, то они прикладываются и сливаются. Это смог в результате воздействия алкалоидов на живых клетках наблюдать Ф. Майнже. В результате слияния ядер возникают полиплоидные ядра с умноженным числом хромосом. В интервалах, в которых хлорализованные корешки оправятся, возможно их несколько раз хлорализовать и тем добиться ядер с высокополиплоидным числом хромосом (до 64). На таких корешках возникают боковые корни, сильно миксополиплоидные, и достигнутую почти чисто полиплоидных корешков (напр. в верхушке длиной 2 мм на продольном срезе имелось 69 диплоидных и 263 полиплоидных клеток). Если полиплоидные клетки не возникнут в зоне инициал, то раньше или позже перейдут в постоянные ткани. Сохраняются лишь в том случае, если возникли в зоне инициал, после чего могут по мере дальнейшего развития корней образовать ленты, секторы или покровы полиплоидных клеток. Кажется, что в случае конского боба (*Vicia faba*) мы имеем дело с несколькими расами: у одной сохраняется приблизительно одинаковое число клеток или слоев (эutelия), в случае другой форма (эуморфия) или размер (эуметрия), или хлорализованные корни могут принимать нерегулярную форму (аморфия). Полиплоидные клетки могут из меристемы корневой верхушки разным образом исчезнуть. Могут, если они высокополиплоидные, отмереть, быть раздроблены и за-

мешены диплоидными клетками. Или могут преждевременно остановить деление и перейти в постоянное состояние. Иногда, однако, целые полиплоидные или миксоплоидные ленты или секторы клеток могут быть отделены от диплоидных несколько утолщенными, слабо одревесневшими и опробковевшими стенками. Эти разные процессы исключают или отделяют из меристемы полиплоидные клетки, хотя это и не происходит регулярно и закономерно. Однако, очевидно, что в миксоплоидной верхушке корня могут высокополиплоидные клетки действовать как чужие тельца, которые могут быть из его ростовой и формирующей деятельности исключены. Полиплоидные клетки могут снизить свое число хромосом в результате мультиполярных митозов. В результате влияния некоторых химических факторов и в диплоидных клетках могут возникнуть многополюсные ядерные деления (Блажек 1902).

B. NĚMEC
 ÜBER MIXOPLOIDE WURZELSPITZEN

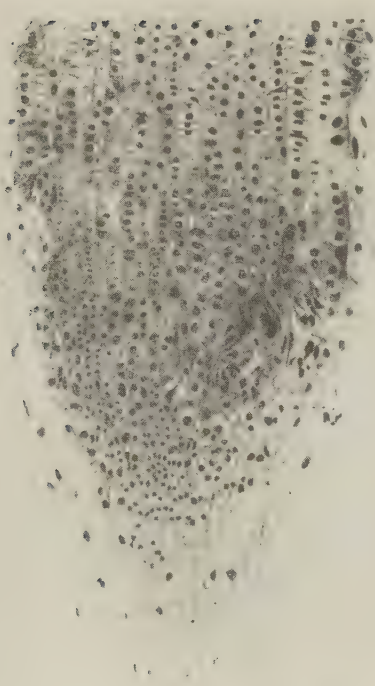


Fig. 1.



Fig. 2.

Fig. 1. Längsschnitt durch eine mixoploide Seitenwurzel mit unregelmässigem inneren Bau, aber mit normaler, äusserer Gestalt. Foto J. FIALA. Alle Figuren beziehen sich auf Wurzeln von *Vicia faba*.

Fig. 2. Längsschnitt durch eine mixoploide Wurzel, die einen Teil der mixoploiden Zellen abstösst. Foto Dr. A. LUX.

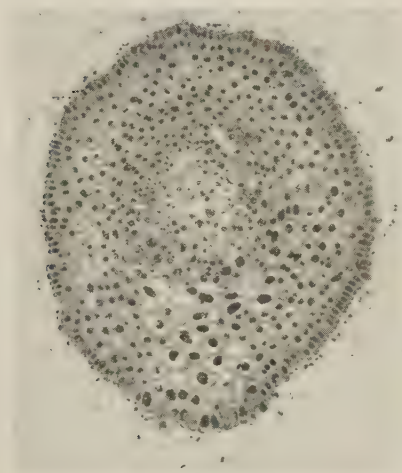


Fig. 3.

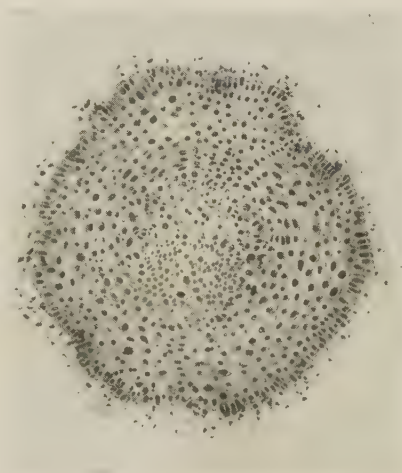


Fig. 4.

Fig. 3. und 4. Querschnitt durch eine mixoploide Seitenwurzel mit verdicktem polyploidem Sektor. Foto J. FIALA.

B. NĚMEC
 ÜBER MIXOPLOIDE WURZELSPITZEN

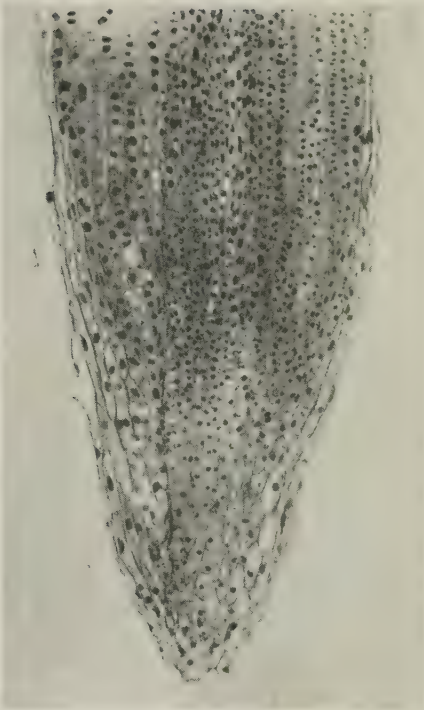


Fig. 5.



Fig. 6.

- Fig. 5. Längsschnitt durch eine mixoploide Seitenwurzel, deren polyploider Sektor an der linken Flanke durch eine Trennungswand abgeschieden ist. Foto J. FIALA.
 Fig. 6. Längsschnitt durch eine mixoploide Wurzelspitze, an der linken Flanke mit einem oktoploiden, an der rechten mit einem tetraploiden Mantel.

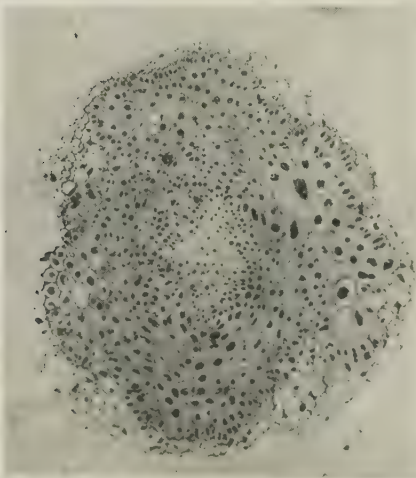


Fig. 7.

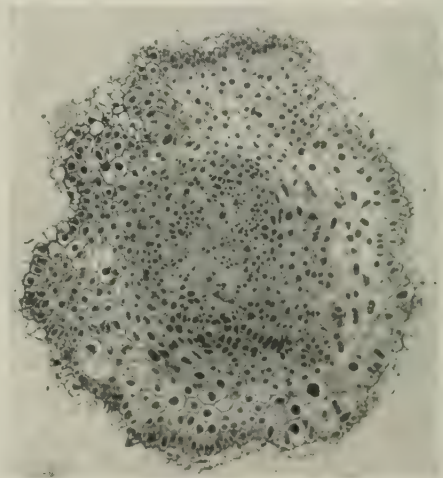


Fig. 8.

- Fig. 7. Querschnitt durch eine eutelische mixoploide Seitenwurzel in grösserer, Fig. 8. in kleinerer Entfernung vom Transversalmeristem. Foto J. FIALA.

B. NĚMEC
ÜBER MIXOPLOIDE WURZELSPITZEN



Fig. 9. Tangentialer Längsschnitt durch eine dreimal nacheinander chloralisierte Keimwurzel, die nahe an der Spitze $16n$, im mittleren Teile $8n$ und im entferntesten Teile $4n$ Zellen enthält. Foto Dr. A. Lux.

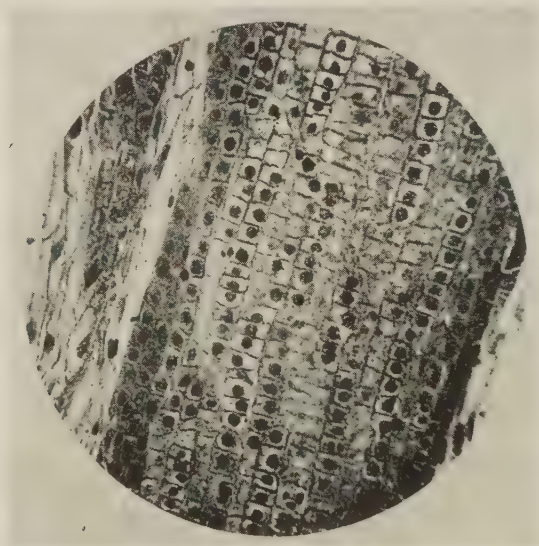


Fig. 10. Längsschnitt durch eine mixoploide Seitenwurzel, in der ein polyploider Sektor vorzeitig die Teilungsfähigkeit eingebüsst hat.
Foto Dr. A. Lux.

К вопросу образования мозаики табака у помидоров при выращивании их в условиях резкого колебания температуры

Милослава Долежалова, Ирки Поздена

Отделение фитопатологии Биологического института ЧСАН, Прага*

Поступило 29 ноября 1961 г.

К otázce vlivu kolísavých teplot na vznik mosaiky tabáku u rajčat

V pokusech s rajčaty (*Solanum lycopersicum* L.) odrůdy Průhonické byla sledována otázka vzniku viru v rostlině vlivem působení kolísání teplot jak popisuje Vovk (1958). Rajčata byla pěstována za aseptických podmínek a byla vyloučena jakákoliv kontaminace. Půda, květináče a bedničky byly desinfikovány, a zaléváno bylo převařenou vodou. Pokusné rostliny byly přes den ve skleníku při teplotě 12—35° C, na noc byly přeneseny do místnosti o teplotě 1—4° C. Kontrolní rostliny byly pěstovány ve skleníku. V žádném případě se nepodařilo vyvolat příznaky virového ochuravění, což bylo též dokázáno testy na *Nicotiana tabacum* L. Samsun a *Nicotiana glutinosa* L. Kolísání teplot neovlivnilo tedy metabolismus rajčat tak, aby došlo ke vzniku viru ve zdravé rostlině.

Резюме

Опыты с помидорами (*Solanum lycopersicum* L.) сорта Пругоницкое (Průhonické) имели целью проследить возникновение в растении вируса в условиях резкого колебания повышенных и пониженных температур, как это описывает Вовк (1958). Помидоры выращивались в асептических условиях, причем исключалась всякая возможность какой-либо контаминации. Почва, цветочные горшки и ящики были продезинфицированы, поливка производилась кипяченой водой. Опытные растения в течение дня находились в теплице, где поддерживалась температура 12—35° C, а на ночь они переносились в холодильное помещение с температурой 1—4° C. Контрольные растения выращивались в теплице. Ни в одном случае не удалось вызвать признаков вирусного заболевания, что было

* Адрес: Biologický ústav ČSAV, oddělení fytopatologie, Na Karlovce 1, Praha-Dejvice.

подтверждено также испытаниями на листьях *Nicotiana tabacum* L. Sam-sun и *Nicotiana glutinosa* L. Таким образом, условия резкого чередования повышенных и пониженных температур не оказали на метаболизм помидоров такого влияния, которое могло бы вызвать образование вируса в здоровом растении.

Введение

Проблема возникновения вируса продолжает оставаться одной из основных в вирусологии. Этот вопрос не только важен в теоретическом отношении, но и имеет большое практическое значение, и не только в области патологии растений, но и для патологии человека и животных.

Вопрос возникновения вируса не раз подвергался изучению в научной литературе. В частности вопрос эндогенного возникновения вируса в растении стал вызывать у специалистов интерес уже с начала текущего века. Обзор взглядов на эндогенное возникновение вируса приведен в работе Штара (Staar 1960). Речь идет во всех случаях о взглядах или гипотезах, весьма мало экспериментально разработанных. Только в последние годы замечается стремление некоторых исследователей доказать возникновение вируса экспериментальным путем. Так, например, Штар (Staar 1960) доказывает, что вирусные процессы встречаются и в растениях кажущихся здоровыми, и что часто очень трудно привести доказательства отсутствия вируса в растении. Скорее нужно считаться с тем, что растение поражено вирусом.

Вовк (1958) тоже придерживается мнения об эндогенном возникновении вируса в растении и на основе своих опытов полагает, что «при воздействии пониженных температур на процесс синтеза нормальных нуклеопротеидов, в них происходят глубокие физико-химические изменения, в результате которых нормальные нуклеопротеиды приобретают совершенно новые качества - свойства вируса, т. е. образуется наследственно измененный нуклеопротеид, обладающий свойствами вируса». В опытах Вовка помидоры, выращенные из здоровых семян, развивались в условиях чередования пониженных и повышенных температур от 2 до 35° С. Температура у контрольных растений в течение всего опыта поддерживалась на уровне 20—30° С. В первом варианте вирус появился в большом числе случаев, у некоторых сортов в 100% (в некоторых случаях уже через 13 дней после начала опыта). Во втором варианте (контрольном) все растения до конца опыта остались здоровыми. В течение опыта автор наблюдал, что появление вируса находилось также в зависимости от возраста растений: чем старше растение тем интенсивнее протекал процесс возникновения вируса. На основе анализа результатов, полученных в течение нескольких лет, Вовк полагает, что «вирус мозаики табака образуется в растениях помидора в результате физиологического нарушения обмена веществ».

В наших опытах мы стремились вызвать симптомы вирусного заболевания помидоров, выращивая их в условиях резкого колебания повышенных и пониженных температур.

Материал, методика и результаты

Для опытов были использованы помидоры (*Solanum lycopersicum* L.) сорт Пругоничский (Průhonické). Посевной материал был взят от растений, не проявляющих никаких симптомов заболевания. Семена были подвергнуты мокрому протравливанию Церезаном (Ceresan) 0,2%-ной концентрации в течение 10 минут. Почвенная смесь была приготовлена из расчета трех частей гумусной земли и одной части речного песка. После того как почвенная смесь была перемешана, она подверглась стерилизации в автоклаве в течение двух часов под давлением 1,5 атм. Рассадные ящики и горшки, используемые при опытах, были новые и перед опытом промывались вирусцидным мылом (Клинковский, Klinkowski 1958). Вода для полива употреблялась кипяченая. Колебания температуры обеспечивались тем, что днем опытный материал находился в теплице, а на ночь (с 18 до 6 час.) переносился в холодильную камеру. Переноска материала из теплицы в холодильник и обратно производилась так, чтобы не допустить проникновения насекомых к опытному материалу. Вместе с тем были приняты меры к тому, чтобы работники переносящие опытный материал, не дотрагивались до растений.

Температура в теплице равнялась в начале опыта 12—30°, позднее 20—35°, в некоторые дни достигла 42°. Температура в холодильной камере поддерживалась на уровне 1—4° С.

Посевные семена (посев был проведен 3. 6. 1959) были разделены на две группы. Семена первой группы росли при условии колебания температуры воздуха, вторая группа осталась в теплице. Так как в первой группе, подвергавшейся колебаниям температуры, взошло за 30 дней только несколько растений, чередование температур было прервано, и помидоры выращивались в условиях нормальных тепличных температур до появления всходов. Потом растения пикировались в цветочные горшки и опять выращивались в условиях колебания температуры. Во второй группе помидоры выращивались в теплице от самого посева. После появления всходов, растения были пикированы в цветочные горшки, часть растений выращивалась в теплице и другая часть развивалась в условиях колебания повышенных и пониженных температур.

Схема постановки опыта видна из следующей таблицы:

Температуры	Растения выращивались при определенной температуре	Число дней, в течение которых растения выращивались в соответствующей температуре		Число растений в начале опыта	Число растений в конце опыта
		колеблющейся	постоянной		
колеблющиеся	от момента посева*	81	31	54	36
	после появления всходов и пикирования*	62	50	48	34
постоянные (контроль)		—	112	69	69

* за исключением прекращения опыта

Помидоры, выращиваемые в условиях чередования пониженных и повышенных температур, были несколько меньше и слабее, чем растения контрольные, выращиваемые в теплице. Эта разница с течением времени становилась все заметнее. За все время проведения опыта ни в одном случае у опытных растений не наблюдалось никаких симптомов заболевания. Для проверки этого факта, все растения были подвергнуты испытаниям. Испытания производились 22. 9. 1959 на растениях *Nicotiana tabacum* L. Samsun и *Nicotiana glutinosa* L. Из каждой верхушечной точки растения и из листьев двух верхних этажей был получен сок путем растирания этих частей в стерильной фарфоровой чашке, после чего был выжат сок, который был использован для инокуляций. Инокуляции проводились непосредственно после получения сока прессованием так, что сок из каждого растения втирался обычным способом при помощи мелкого карборунда в два-три самых молодых листа *N. tabacum* Samsun и одного листа *N. glutinosa*. При инокуляциях соблюдалась максимальная стерильность. Для контроля инокулировалось еще 10 растений *N. tabacum* Samsun и 10 листьев *N. glutinosa* вирусом мозаики табака, препарированным из больных листьев табака. После появления типичных симптомов мозаики табака у контрольных растений, обсуждались результаты испытаний помидоров. Ни в одном случае не было обнаружено никаких признаков вирусного заболевания ни на *N. tabacum* Samsun ни на *N. glutinosa*.

Дискуссия

В опытах по изучению влияния резкого колебания пониженных и повышенных температур на образование мозаики табака у помидоров, нам не удалось ни в одном случае вызвать симптомы мозаики табака, как это можно было бы ожидать по описанию Вовка (1958), несмотря на то, что в наших опытах помидоры подвергались колебаниям температуры 50 дней после посева, т. е. в течение периода, который по Вовку является самым благоприятным для образования вируса в растении. Нам кажется, что проблема возможного образования вируса настолько сложна, что ее нельзя объяснить только влиянием некоторых внешних факторов. Колебания температуры не имеют, очевидно, такого влияния на метаболизм растений, в результате которого мог бы возникнуть вирус путем приобретения нуклеопротеидами растения новых свойств — свойств вируса.

Нам не удалось, подвергая помидоры, при соблюдении максимальной стерильности, резким колебаниям повышенных и пониженных температур вызвать у них симптомы мозаики табака. Это свидетельствует о том, что возникновение вируса в растении при применении приведенных диагностических методов нельзя доказать. Положительные результаты опытов Вовка можно было бы, между прочим, объяснить контаминацией опытного материала.

Литература

- Вовк, А. М.: Температурные условия возникновения энфитотий вируса мозаики и стрика помидора. — Ж. общ. биологии **19** : 139—147, 1958.
 KLINKOWSKI, M.: Pflanzliche Virologie. I : 279, Berlin, 1958.
 STAAR, G.: Zur Problematik der endogenen Virusbildung. — Biol. Plant. **2** : 188—200, 1960.

Miloslava Doležalová and Jiří Pozděna (Department of Phytopathology, Institute of Biology, Czechoslovak Academy of Sciences, Praha)

On the influence of temperature variations on the occurrence of tobacco mosaic virus (TMV) in tomato plants

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (4) : 265—276, 1961

During experiments with tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) var. Průhonické, the problem of the incidence of the virus disease brought about by temperature variations, as described by Vovk (1958), was investigated. The tomato plants were cultivated under aseptic conditions and all contamination was eliminated. The soil, the flowerpots and boxes were disinfected and the plants were irrigated with boiled water. During the day, the plants investigated were kept in the greenhouse at the temperature of 12—35° C and during the night in a room at the temperature of 1—4° C. The control plants were cultivated in the greenhouse. No symptoms of the virus disease occurred, this being demonstrated by tests on *Nicotiana tabacum* L. SAMSUN and *Nicotiana glutinosa* L. Temperature variations did not influence the metabolism of the tomato plants so as to result in the virus mosaic in a healthy plant.

Respiration of Apple Pollen on Different Sugar Substrates and the Problem of the Role of Sucrose in Pollen-Tube Growth

EVA HRABĚTOVÁ and JAROSLAV TUPÝ

Department of Plant Physiology, Institute of Biology,
Czechoslovak Academy of Sciences, Praha*

Received December 9, 1960

Dýchání pylu jabloně v různých cukerných substrátech a otázka významu sacharosy pro růst pylových láček

Intensita dýchání klíčícího pylu jabloně, sledovaná podle spotřeby O_2 , je podstatně odlišná v roztocích sacharosy, glukosy, invertu a fruktosy. Nejvyšší je v prostředí sacharosy, nejnižší v roztoku fruktosy. Sacharosa se jako medium či substrát pro dýchání pylu nedá zcela nahradit glukosou, fruktosou či invertním cukrem nejen v počátečních fázích klíčení, nýbrž ani během pozdějšího růstu láček.

Spotřeba O_2 pylovými láčkami se v roztoku sacharosy, stejně jako jejich růst, začíná snižovat přibližně po 6 hodinách od vysetí pylu. Jestliže se po 5 hodinách kultivace vymění kultivační roztok čerstvým roztokem sacharosy, pak se během dalších 4 hodin intensita dýchání prakticky nemění. Z uvedených skutečností vyplývá, že rychlá inverze sacharosy pylovými láčkami je hlavní příčinou zpomalování jejich růstu a dýchání v sacharosovém prostředí.

Summary

The respiration intensity of germinating apple-pollen as determined from oxygen consumption is basically different in solutions of sucrose, glucose, invert sugar and fructose. It is highest in sucrose, lowest in fructose. In its function as medium or substrate for pollen respiration sucrose cannot be fully replaced by glucose, fructose or invert sugar, either during the initial stages of germination or during the further growth of pollen tubes.

* Address: Biologický ústav ČSAV, Na cvičišti 2, Praha-Dejvice.

The oxygen consumption by pollen tubes in sucrose solution, together with their growth, begins to slow down approximately 6 hours after the beginning of germination. If the cultivation medium is replaced with a fresh sucrose solution after 5 hours of cultivation then the respiratory intensity remains practically constant for a further four hours. It follows from the above findings that the rapid inversion of sucrose by pollen tubes is the main reason for retardation of their growth and respiration in a sucrose medium.

Introduction

The best medium for the artificial cultivation of many kinds of pollen is one which contains sucrose as its sugar component. This old experience has been recently confirmed for a number of species (O'KELLEY 1955, GLENK 1960, TUPÝ 1960, VASIL 1960). Germinating pollen of *Tecoma radicans* will utilize sucrose more intensely than fructose or glucose in respiration (O'KELLEY 1955). It thus appears that sucrose requirement by germinating pollen is connected with its utilizability by the pollen tubes for respiration.

Cultivation medium with sucrose is inverted by pollen tubes (LINSKENS 1955, IWANAMI 1956a, 1956b, SCHADE 1957, TUPÝ 1960). Due to this inversion the concentration of sucrose in the medium decreases rapidly. As soon as about one-half of the amount in a 10% solution is hydrolyzed the growth of pollen tubes begins to slow down. Since sucrose can be taken up by the pollen tubes from the medium and since pollen tubes grow at a lower rate in a solution of invert sugar it was assumed that the inversion brings about a diminution of sucrose value as regards its utilizability by pollen tubes (TUPÝ 1960).

The above findings and assumptions have determined the principal direction of further experimental work which aimed at the elucidation of the role of sucrose for pollen tubes and at the demonstration of the impossibility of replacing sucrose with glucose, fructose or invert sugar.

Material and Methods

Pollen of the apple-tree var. Golden Pearmain which had been kept at -10° to -15° for several months was used as experimental material.

Respiration intensity of germinating pollen was determined from the oxygen consumption as measured by the conventional Warburg manometric method. A weighed amount of pollen (5 or 10 mg.) was placed in the main compartment of the Warburg flask and then the cultivation sugar medium (0.3M in glass-distilled water with 0.001% H_3BO_3) was added. The invert-sugar solution was 0.3M with respect to each of the two components. (It was shown experimentally that oxygen consumption by the pollen tubes in an invert-sugar solution of this concentration was the same as in a solution of half the concentration.) Oxygen consumption was estimated in three parallel samples. No calculation was made to express it in terms of a constant amount of pollen (e.g. of 1 mg.) on account of the fact that the percentage and energy of apple pollen germination depends on its density in the medium (VISSER 1951).

Results

1. Respiration of pollen in solution of sucrose, glucose, fructose and invert sugar

The course of respiration as measured by oxygen consumption in the various sugar media is shown in Fig. 1. During approximately the first two hours the intensity of respiration in solutions of sucrose and glucose increases. In the course of a further 4 to 5 hours the consumption of oxygen per unit time in a sucrose solution is constant, later it begins to decrease. In a glucose solution a rapid decrease of respiration may be observed approximately 3 hours after the beginning of germination of pollen. The consumption of oxygen by germinating pollen in a solution of fructose or invert sugar is from the very beginning significantly lower than in the presence of sucrose and begins to decrease as early as after one hour.

In order to exclude completely the possibility of an inhibitory effect of impurities in the preparations of fructose and glucose used, on the growth and respiration of pollen tubes, another experiment was devoted to an estimation of oxygen consumption by a solution of invert sugar obtained by inversion of sucrose with the aid of pollen tubes.

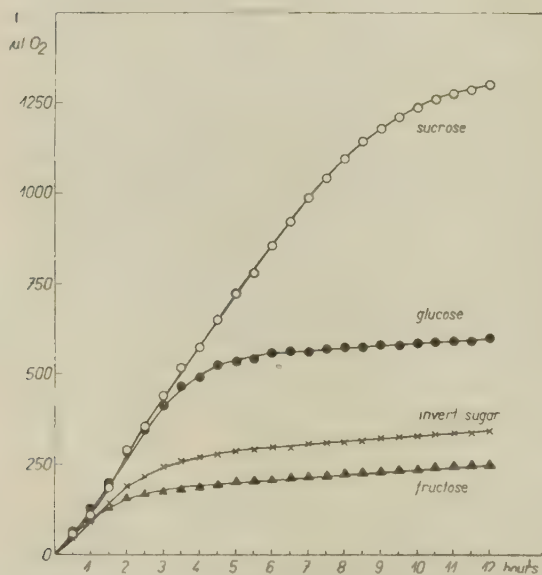


Fig. 1. Respiration of germinating pollen in solutions of sucrose, glucose, fructose and invert sugar. Experimental arrangement: Main compartment of Warburg flask: 10 mg. pollen in 2 ml. solution of sugar. Central well: 0.2 ml. 20% KOH. Temperature 26°, 60 strokes/min. Measurement of oxygen consumption started 30 min. after pollen sowing.

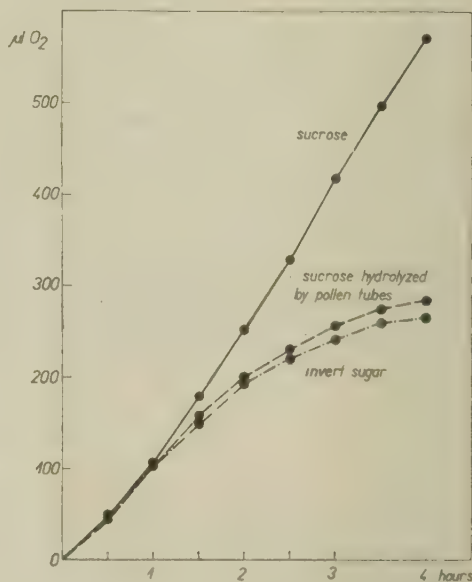


Fig. 2. Respiration of germinating pollen in a solution of sucrose inverted by pollen tubes. Experimental arrangement: Main compartment of Warburg flask: 10 mg. pollen in 1.5 ml. solution of sugar. Central well: 0.2 ml. 20% KOH. Temperature 26°, 60 strokes/min. Measurement of oxygen consumption started 30 min. after pollen sowing.

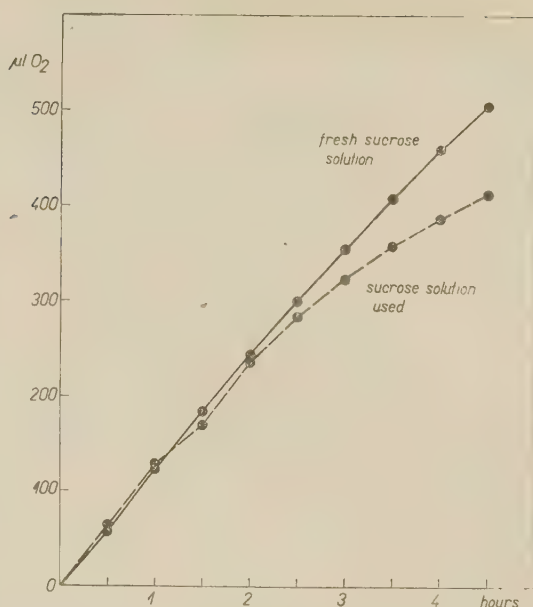


Fig. 3. Respiration of pollen tubes after replacing the cultivation sucrose medium with a fresh solution of sucrose. Experimental arrangement: Main compartment of Warburg flask (flasks without central well were used): Silon tissue with 5 mg. germinating pollen in 3 ml. solution of sugar. Side-arm: 0.5 ml. 20% KOH. Temperature 26°, 60 strokes/min. Measurement of oxygen consumption started 45 min. after transfer of pollen to the flask.

The procedure for obtaining this invert sugar arose from previous results (Tupý 1960). Fifty mg. pollen was cultivated in 5 ml. 0.3M sucrose in 0.001% solution of H_3BO_3 on an area of about 75 cm.². After ten hours of cultivation at 26° the solution was filtered, sterilized and used as "sucrose inverted by pollen tubes".

The result of this experiment (Fig. 2) shows that the above possibility may be excluded.

2. Is the decrease in the respiratory intensity of pollen tubes in a sucrose solution due to its inversion?

In order to elucidate this problem the respiration of pollen was investigated after replacing the cultivation medium with a fresh solution of sucrose.

Glass tubes of 25 mm. diameter, covered at the lower end with fine Silon tissue and placed in a solution of sucrose, each received 5 mg. pollen. This half amount was chosen because of the small surface of sugar solution above the tissue. After 5 hours of cultivation at 26° the germinating pollen including the tissue was separated from the cultivation solution by suction and quantitatively transferred to a Warburg flask by means of 3 ml. of cultivation medium: in 3 samples a fresh solution of sucrose was used, in another 3 samples a solution in which pollen had been grown for 5 hours.

In cases when the pollen tubes were transferred to the sucrose solution in which pollen had germinated previously, a decrease in respiration intensity was observed after two hours (Fig. 3). This decrease thus took place 7 hours after the beginning of pollen germination, i.e. after practically the same time as in the first experiment (Fig. 1) where pollen was grown in Warburg flasks without interruption. If, however, a fresh solution of sucrose was added to the pollen tubes the intensity of respiration was practically unchanged for a further 4 hours.

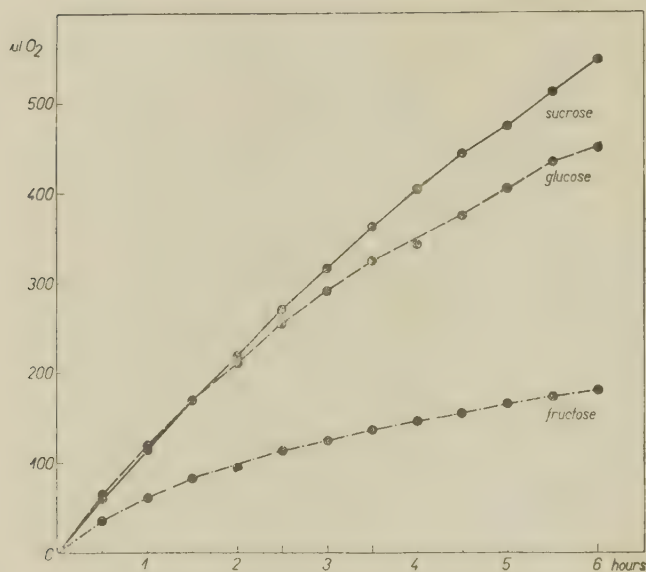


Fig. 4. Respiration of pollen tubes after replacing the cultivation sucrose medium with a fresh solution of sucrose, glucose or fructose. Experimental arrangement: The same as in Fig. 3.

3. Respiration of pollen after replacing the cultivation solution of sucrose with that containing sucrose, glucose or fructose

It may be seen from the results of the previous experiment (Fig. 3) that even during the later stages of pollen germination, i.e. at a time when long pollen tubes have been formed, the respiration intensity will depend on the presence of sucrose in the medium, it being not possible to replace sucrose by invert sugar. It was the purpose of another experiment to demonstrate that the sucrose requirement in the medium is not associated only with the initial stages of pollen germination.

After 3 hours of germination in a sucrose solution at 26° the germinating pollen was washed with the subsequent cultivation solution (sucrose, glucose or fructose) and transferred quantitatively including the tissue to Warburg flasks as in the preceding experiment. The amount of pollen per flask was 5 mg.

Respiration of pollen tubes after replacing the substrate is, in common with the preceding experiment, most intense with sucrose and lowest with fructose (Fig. 4). The decrease in respiration intensity in glucose and fructose solutions is, however, more gradual than in the case of cultivation of pollen in these solutions from the beginning of the experiment.

Discussion

The sequence of sugars with regard to the intensity of respiration of germinating apple pollen is identical with that obtained when the rate of growth of pollen tubes in sugar solutions is considered, as was estimated previously

(TUPÝ 1960). Pollen tubes grow and respire most rapidly on sucrose and least rapidly on fructose. The course of respiration in a sucrose solution is also identical with growth as measured in this solution. Both processes begin to slow down approximately 6 hours after the beginning of germination. It cannot be determined at present to what extent endogenous and exogenous substrates participate in respiration. Since sugars are taken up by the apple pollen tubes (TUPÝ 1960) from the medium it appears likely that the different intensity of respiration in solutions of sucrose, glucose, fructose and invert sugar only reflects the different rate at which the above sugars can enter the respiratory pathways of pollen tubes. This is also supported by the finding that germinating pollen of *Tecoma radicans* will utilize exogenous sucrose more rapidly than either glucose or fructose (O'KELLEY 1955). It cannot be excluded at present, however, that the growth effect of the individual sugars is primary and the different respiration intensity only secondary.

The fact that by replacing the cultivation solution of sucrose with a fresh sucrose solution will prevent the respiration intensity from decreasing seems to confirm the above assumption that the inversion of sucrose causes a loss of the usefulness of sucrose for utilization by pollen tubes. It appears likely that by repeated exchange of the cultivation medium with sucrose it will be possible, with species requiring the presence of sucrose in the medium, to achieve a substantially greater growth of pollen tubes than was possible heretofore. In connection with the minute growth of pollen tubes in media containing fructose a toxic effect of fructose has sometimes been considered (GLENK 1960). From this point of view it cannot be decided at present whether during the time of growth and respiration retardation in a sucrose solution the limiting factor is represented by its lack or by an increasing concentration of fructose.

The above finding also indicates that the necessity of sucrose for pollen tubes is not bound to the initial phases of germination only, but that it is exhibited during subsequent growth of pollen tubes, as well. This conclusion is supported by the fact that after initial germination of pollen in sucrose and subsequent transfer to a medium containing a different sugar, the intensity of respiration is again highest on sucrose and lowest on fructose. Nevertheless the decrease in oxygen consumption after replacing sucrose with glucose or fructose is more gradual than during cultivation of pollen in these sugars from the beginning of germination. The physiological basis of this phenomenon cannot be explained at present.

References

- GLENK, H. O.: Keimversuche mit *Oenothera*-Pollen in vitro. — *Flora* **143** : 378—433, 1960.
IWANAMI, Y.: Physiological researches of pollen IX. The starch and the sugar in the pollen grain. — *Bot. Mag. (Tokyo)* **69** : 91—95, 1956a.
IWANAMI, Y.: Physiological researches of pollen X. The absorption of sugars and some enzyme reactions. — *Bot. Mag. (Tokyo)* **69** : 198—202, 1956b.
LINSKENS, H. F.: Physiologische Untersuchungen der Pollenschlauchhemmung selbsteriler *Petunien*. — *Ztschr. Bot.* **43** : 1—44, 1955.

- O'KELLEY, J. C.: External carbohydrates in growth and respiration of pollen tubes in vitro. — Amer. Jour. Bot. **42** : 322—327, 1955.
- SCHADE CH.: Keimfähigkeit und Lebensdauer des Pollens von Kartoffel-X-Virus-infizierter *Nicotiana acuminata* (Grah.) Hook. Phytopathol.-Ztschr. **30** : 225—236, 1957.
- TUPÝ, J.: Sugar absorption, callose formation and the growth rate of pollen tubes. — Biol. Plant. **2** : 169—180, 1960.
- VASIL, I. K.: Studies on pollen germination of certain Cucurbitaceae. — Amer. Jour. Bot. **47** : 239—247, 1960.
- VISSER, T.: Bloembioogie en kruisingstechniek bij appel en peer. — Meded. Dir. Tuinb. **14** : 707—726, 1951.

Е. Грабетова, Я. Тупы (Отдел физиологии растений, Биологический институт, Чехословацкая академия наук, Прага)

Дыхание пыльцы яблони в разных углеводных субстратах и вопрос значения сахарозы для роста пыльцевых трубок

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (4) : 270—276, 1961

Интенсивность дыхания прорастающей пыльцы яблони, определяемая по расходу O_2 , существенно отличается в растворах сахарозы, глюкозы, инверта и фруктозы. Наивысших значений достигает в среде сахарозы, самых низких в среде фруктозы. Сахарозу как среду или субстрат для дыхания пыльцы нельзя полностью заменить глюкозой, фруктозой или инвертом не только в начальных фазах прорастания, но даже и в течение дальнейшего роста трубок.

Расходование O_2 пыльцевыми трубками в растворе сахарозы, также как и рост трубок, начинает падать приблизительно 6 часов после посева пыльцы. Если после 5 часов прорастивания заменить культивационный раствор свежим раствором сахарозы, то в течение дальнейших 4 часов интенсивность дыхания практически не изменится. Из приведенных данных вытекает, что быстрая инверсия сахарозы пыльцевыми трубками является решающей причиной торможения роста и дыхания в сахарозной среде.

Host Range of Wheat Striate Virus

JOSEF VACKE and VLADIMÍR PRŮŠA*

Crop Production Research Institute of the Czechoslovak Academy of Agricultural Science,
Ruzyně, near Prague and Hop Research Institute of the Czechoslovak Academy of Agricultural
Science, Žatec

Received December 15, 1960

Okruh hostitelů viru proužkovitosti pšenice

Na sání přirozeně infikovaného přenašeče viru proužkovitosti pšenice (VPP) křisa *Calligypona pellucida* F. reagovaly charakteristickými příznaky v poměrně značném rozsahu *Bromus arvensis* L., *B. mollis* L., *Avena fatua* L., *A. nuda* L. (HOEJ.), *Triticum aestivum* L. s. s., *T. compactum* HOST., *T. dicoccum* SCHRANK a *Hordeum murinum* L., v menším podílu pak *Lolium multiflorum* LAM., *L. perenne* L., *Bromus tectorum* L., *Poa annua* L., *Avena strigosa* SCHREB., *A. sterilis* L., *Triticum spelta* L., *T. durum* DESF., *T. turgidum* L. a *T. polonicum* L. Dalších 42 rostlinných druhů ze 6 čeledí v této testaci neonemocnělo. Negativně vyzněl i pokus o umělé nakažení *Phleum pratense* L., třebaže u tohoto rostlinného druhu jsme v přírodě pozorovali typické příznaky VPP. Máme za to, že některé negativní výsledky byly asi v příčinné spojitosti se značně kolísající přenašečskou účinností vektora, známou již z dřívějších prací.

V kulturách pšenin prvního užitkového roku v místech s nadměrně hojným výskytem larev *Calligypona pellucida* bylo při terénních pozorováních zaznamenáno v některých lokalitách na Českomoravské vysočině silnější napadení VPP u *Lolium multiflorum*. Charakteristické příznaky VPP jsme při tom zjistili i na *Phleum pratense*, *Lolium perenne* a *Bromus mollis*.

* *Addresses*: Ing. Josef Vacke, Výzkumný ústav rostlinné výroby ČSAZV,
Praha-Ruzyně 507
Ing. Vladimír Průša C. Sc., Výzkumný ústav chmelařský ČSAZV,
Žatec, Žitkovo nám.

Summary

The following plants reacted to acquisition feeding by an infected leafhopper, *Calligypona pellucida*, vector of the wheat striate virus (WSV) with characteristic symptoms to a relatively marked extent, — *Bromus arvensis* L., *B. mollis* L., *Avena fatua* L., *A. nuda* L. (HOEJ.), *Triticum aestivum* L. s. s., *T. compactum* HOST., *T. dicoccum* SCHRANK and *Hordeum murinum* L., to a lesser degree *Lolium multiflorum* LAM., *L. perenne* L., *Bromus tectorum* L., *Poa annua* L., *Avena strigosa* SCHREB., *A. sterilis* L., *Triticum spelta* L., *T. durum* DESF., *T. turgidum* L. and *T. polonicum* L. A further 42 plant species from 6 families remained uninfected in this test. An attempt to infect *Phleum pratense* artificially gave negative results even though typical symptoms of WSV were found in this variety in nature. It is probable that some negative results were connected with the considerable vacillation of the transmittable efficacy of the vector, already known from previous work.

During field observation of fodder crops in the first year in some districts of the Czecho-Moravian Highlands, where the occurrence of *Calligypona pellucida* larvae was abnormally profuse, a stronger infection of WSV in *Lolium multiflorum* was recorded. At the same time, characteristic symptoms of WSV were also confirmed on *Phleum pratense*, *Lolium perenne* and *Bromus mollis*.

Introduction

A first brief report of wheat striate virus was made in Czechoslovakia with relation to the discovery of the oat sterile-dwarf virus, which caused considerable damage to oat crops in extensive regions of the Czecho-Moravian Highlands (PRŮŠA 1958, PRŮŠA et al. 1959). The most important characteristics of this virus were dealt with in further work (PRŮŠA 1960a, 1960b, 1960c, PRŮŠA and VACKE 1960a, PRŮŠA and VACKE 1960b) and its obvious identity with the European cereal (wheat) striate mosaic virus described in England (SLYKHUIS and WATSON 1958) was proved.

It must be mentioned from published data having direct relation to this work, that receptivity to European cereal striate mosaic virus was proved in barley, wheat, oats, rye, *Lolium multiflorum* LAM. and *L. perenne* L. (SLYKHUIS and WATSON 1958); in Czechoslovakia, *Avena fatua* L. and *Poa annua* L. (PRŮŠA et al. 1959) and also *Lolium multiflorum* LAM., *L. perenne* L., *Bromus arvensis* L. and *B. mollis* L. (VACKE 1960). In addition to wheat, oats and barley, were subsequently successfully infected with WSV. As far as natural occurrence is concerned, characteristic symptoms of WSV were ascertained in Czechoslovakia not only in cereals (most often wheat), but also in some other kinds of grass (*Lolium multiflorum*, *L. perenne*, *Bromus mollis*, *Phleum pratense* (growing in the region where the larvae of the natural WSV vector, leafhopper *Calligypona pellucida*, hibernate (VACKE 1960). This proved that WSV was also of certain economic importance for fodder grasses and supplied the impulse for a more detailed study of its possible hosts with the aim of examining conditions important for the preservation and rotation of this

virus in nature. Testing for receptivity of WSV in many types of plants and a thorough exploration of disease symptoms in plants in both cultivated and natural surroundings, were carried out in the years 1959 and 1960.

Material and Methods

WSV was spread by naturally infected larvae of *Calligypona pellucida* in glass-house experiments. The larvae originated from mixed clover-grass crops from the Zachotín locality of the Pelhřimov district (the district in which an epidemic of the oat sterile-dwarf virus disease occurred in the years 1954 to 1956). The infectivity of each experimental insect was confirmed before hand by two individual tests on oats of the Valečovský white variety. The degree of infectivity of the larvae fluctuated in individual passages and series from 7 to 22%. Because parallel studies were made of the receptivity of the tested plants to the oat sterile-dwarf virus, larvae infected with this virus were also left in the experiment. Larvae free of both viruses were separated and tested apart as controls. In this way, the percentage of larvae capable of WSV infection in the experimental series rose to 32. Checked and separated larvae were then placed individually (for the technique of transferring, see PRŮŠA and VÁČEK 1960a) on the experimental plants grown in wooden boxes spaced 5 × 6 cm. apart. Escape of the vectors was prevented by glass tubes, the lower edge of which was let into the ground and the top closed with silon material after the introduction of the insects.

The period of infectious feeding of the larvae lasted from 7—8 days. The test plants were infected during the vegetative phase of 2—4 leaves. The number of examined plants fluctuated between 36 and 64. Plants covered with non-infected larvae acted as controls. The temperature in the glass-house during the period of infection was between 14—26° C and the relative humidity between 25—85%. The initial 3—4 weeks' growth of the infected plants was passed in a glass-house under similar conditions to those which existed during the infections period. At the end of May and during the other summer months, the boxes with the plants were placed in a glass-house which had all its glass panes exchanged for transparent and porous silon material.

Sixty plant species from the families *Poaceae* (*Gramineae*), *Polygonaceae*, *Fabaceae*, *Solanaceae*, *Plantaginaceae* and *Asteraceae* were tested for receptivity to WSV.

Field observation of the occurrence of WSV on naturally infected plants was carried out both in areas of natural incidence and in cultivated crops. Greatest attention was paid to areas strongly invaded with larvae *Calligypona pellucida*, i.e. two or more year crops in the year of planting and in the following year. Research was also carried out on temporary and perennial meadows, grassy boundaries, the edges of woods and other areas of possible temporary sojourn of the transmitter leafhoppers. In plants where symptoms of WSV were found, the degree of damage was also estimated.

Results and Discussion

As can be seen in tab. 1, glass-house infection experiments with the vector *C. pellucida* demonstrated receptivity to WSV in 18 species from the family *Poaceae*. Typical striping developed in these species: *Poa annua* L., *Lolium multiflorum* LAM., *L. perenne* L., *Bromus mollis* L., *B. arvensis* L., *B. tectorum* L., *Hordeum murinum* L., *Triticum dicoccum* SCHRANK, *T. spelta* L., *T. durum* DESF., *T. turgidum* L., *T. aestivum* L. s. s., *T. compactum* HOST., *T. polonicum* L., *Avena fatua* L., *A. strigosa* SCHREB., *A. sterilis* L., *A. nuda* (L.) HOEJ. A rather high percentage of transmission was achieved in *Bromus arvensis*, *B. mollis*, *Hordeum murinum*, *Avena nuda*, *A. fatua* and several species from the *Triticum* genus. On the other hand, very little transmission

was remarked in *Lolium perenne*, *Bromus tectorum*, *Avena strigosa*, *Poa annua* and a few representatives of the genus *Triticum*. Artificial transmitting of WSV was unsuccessful in *Rumex acetosella* L. and *Fagopyrum tataricum* L. (GÄRTN) from the family *Polygonaceae*, *Trifolium arvense* L., *T. repens* L. and *T. montanum* L. from the family *Fabaceae*, *Nicotiana tabacum* L. and *Datura stramonium* L. from the family *Solanaceae*, *Plantago lanceolata* L. from the family *Plantaginaceae*, *Taraxacum officinale* WEB., *Sonchus arvensis* L., *Achillea millefolium* L. and *Cirsium arvense* (L.) SCOP. from the family *Asteraceae*, *Festuca pratensis* HUDS., *Festuca rubra* L., *Poa pratensis* L., *P. trivialis* L., *P. nemoralis* L., *P. palustris* L., *Glyceria aquatica* (L.) WAHLB., *Dactylis glomerata* L., *Briza media* L., *Cynosurus cristatus* L., *Melica transsilvanica* SCHUR, *Elytrigia repens* L. (DESV.), *Triticum monococcum* L., *Bromus inermis* LEYSS., *Nardus stricta* L., *Arrhenatherum elatius* (L.) PRESL, *Trisetum flavescens* (L.) P. BEAUV., *Anthoxanthum odoratum* L., *Calamagrostis epigaeos* (L.) ROTH., *Agrostis stolonifera* L., *Alopecurus pratensis* L., *Molinia coerulea* (L.) MOENCH., *Digitaria ischaemum* (SCHREB.) MUEHLENB., *Echinochloa crus-galli* (L.) P. BEAUV., *Panicum miliaceum* L., *Setaria glauca* (L.) P. BEAUV., *Sorghum vulgare* PERS., *S. saccharatum* L. (MOENCH) and *Zea mays* L. from the family *Poaceae*. Similarly negative were attempts to infect *Phleum pratense* L., which, however, in certain cases in fodder crops in the Czecho-Moravian Highlands, showed typical symptoms of WSV on a considerable number of individual plants. In view of marked oscillation in the efficacy of the vector (WATSON and SINHA 1959, PRŮŠA 1959, 1960, PRŮŠA and VACKE 1961a), it is still not possible, however, to consider negative results as definite.

Field research in many districts of the Czecho-Moravian Highlands (Pelhřimov, Dobrá Voda, Zachotin, Čejkov, Turovka, Sázava, Horní Ves and Bystrá

Table 1. Positive results of receptivity test of plants from the family *Poaceae*

Variety of infected plants	No. of plants for feeding	No. of successful infections	Percentage of successful infections	Length of incubation period (days)
<i>Poa annua</i> L.	31	2	6.5	28—30
<i>Lolium perenne</i> L.	61	2	3.3	30—45
<i>L. multiflorum</i> LAM.	64	7	10.9	27—40
<i>Hordeum murinum</i> L.	56	22	39.3	16—28
<i>Triticum dicoccum</i> SCHRANK.	64	13	20.3	18—32
<i>T. spelta</i> L.	61	6	9.8	18—32
<i>T. durum</i> DESF.	37	2	5.4	24—30
<i>T. turgidum</i> L.	55	3	5.5	20—36
<i>T. aestivum</i> L. s. s.	63	13	20.6	18—32
<i>T. compactum</i> HOST.	60	11	18.3	19—32
<i>T. polonicum</i> L.	64	6	9.4	18—32
<i>Bromus mollis</i> L.	64	12	18.7	22—32
<i>B. arvensis</i> L.	64	26	40.6	20—32
<i>B. tectorum</i> L.	31	1	3.2	29
<i>Avena fatua</i> L.	58	12	20.7	17—29
<i>A. strigosa</i> SCHREB.	62	3	4.8	23—26
<i>A. sterilis</i> L.	62	8	12.9	18—26
<i>A. nuda</i> (L.) HOEJ.	43	9	20.9	18—34

in the Pelhřimov district; Hojkov and Nová Ves in the Jihlava district; Dubí and Skorkov in the Havlíčkův Brod district) showed that symptoms similar to those obtained in glass-house experiments appear naturally in *Lolium multiflorum*, *L. perenne* and *Bromus mollis*. Besides this, symptoms characteristic for WSV were observed in *Phleum pratense*. In fodder crops (clover-grasses), *Lolium multiflorum* was regularly the most affected. Indeed,

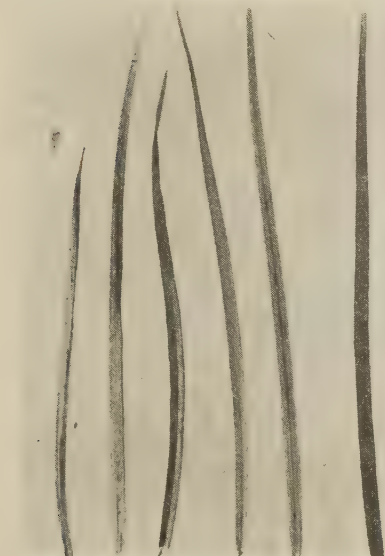


Fig. 1. Leaves of *Bromus mollis* L. artificially infected with WSV. Leaf of healthy plant on the right.

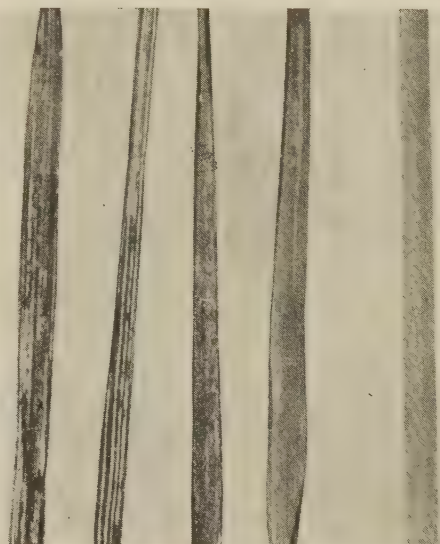


Fig. 2. Leaves of *Lolium multiflorum* LAM. artificially infected with WSV. Leaf of healthy plant on the right.

in the Zachotín district, symptoms of WSV were found in this variety on 32% of the plants. On the same land, 10% of *Lolium perenne*, 5% of *Phleum pratense* and 2% of *Bromus mollis* were infected. Similar tendencies to infection could be observed in further districts, although the percentage of diseased plants was considerably lower. No symptoms of WSV were ascertained in four districts. The extent of infection was reviewed at the end of June and the beginning of July, when the majority of plants infected in the Autumn had died. It can therefore be supposed with certainty that in reality, there is a far greater number of grasses infected with WSV. Single diseased plants were found on grassy boundaries in the Zachotín district in the immediate vicinity of fodder crops. No plants with symptoms of WSV were observed on further natural areas such as meadows, waysides and the edges of woods.

The infection of grasses with WSV was dependent in all cases on the places where development of the *Calligypona pellucida* larvae takes place. The in-

tensity of infection is in direct ratio to the population density of the transmitters. This is again dependent on the types of cover crops and on microclimatic conditions in the crop. The greatest number of diseased plants was found in fodder crops where the cover crop was oats. In fodder crops undersown into other cereals, especially into rye, striped plants appeared only singly.

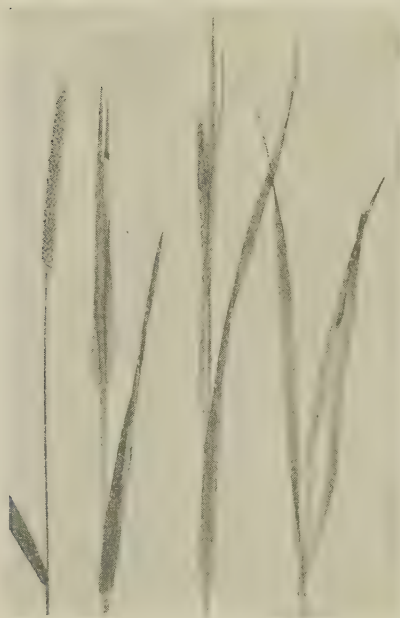


Fig. 3. *Phleum pratense* L. naturally infected with WSV. Healthy plant on the left.

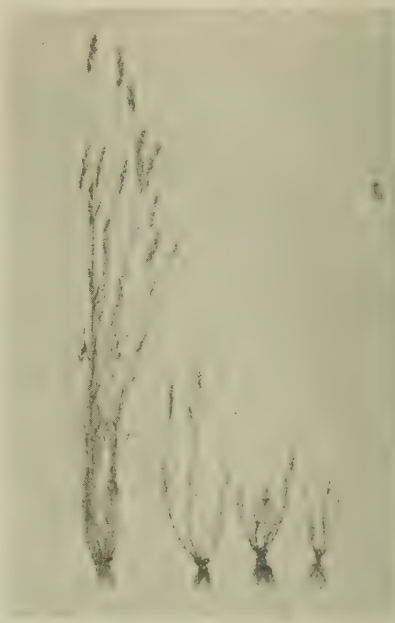


Fig. 4. *Bromus mollis* L. naturally infected in the field. Plant without symptoms of WSV on the left.

More diseased grasses were found in places shaded by woods or bushes where the temperature was lower and the relative humidity higher than were found in the sunshine.

The fact that WSV causes noticeably greater damage on fodder crops of the grass type rather than cereal type is most likely connected with the length of sojourn of the transmitter on them. *Calligypona pellucida* spends the greater part of its development on fodder crops in the year in which they are sown and the beginning of the following year. The period following hatching of the larvae (July, August) up to development into adult insects and migration to cereals (the end of May and June of the following year), after subtracting 4—5 months of hibernation or low activity, totals 5—6 months. For the whole of this period, the transmitter is able to infect receptive plants. On cereals, however, the period of possible infection is much shorter—lasting 2—3 months if the time from the attack until the growing phase of the plant when WSV can still damage it is taken into consideration.

Without a doubt, the concentration of leafhoppers on area units plays a great part in the infection of grasses. The concentration of adult insects on 1 m² of cereals rarely reached 20—30 in number in the years of our research. In fodder grasses where the cover-crop was oats, however, there were on an average 450—1300 larvae to 1 m². The possibility of infection under these conditions is naturally many times greater than in the former case. Of course, the irregular power of the leafhopper to transmit WSV and the greater mobility of the adult vector than its larvae on the plants must be taken into account.

Just as in the glass-house experiments, certain differences in the destructivity of WSV on individual types of host plants were also ascertained in nature. According to the degree of dwarfing, the following varieties suffered most from WSV: *Bromus mollis* (average shortening of the stalk being 72%), then followed *Phleum pratense* (the plants were shorter by 69.5%), further *Lolium multiflorum* (stunting of growth 64.9%) and finally *Lolium perenne* (height reduced by 60%). This field observation of the given hosts was in agreement with the results from infection experiments in the glass-house.

Contrary to the results from glass-house experiments, more frequent infection in *Lolium multiflorum* than in *Bromus mollis* was met with in natural conditions. This is probably related to the suitability of these grasses as food for the larvae of the vector. *Bromus mollis* is possibly not very attractive for the leafhopper larvae, because of the profuse hairiness of its leaves, leaf sheaths and stalks, or at least, these conditions make feeding difficult. Vice versa, *Lolium multiflorum* has smooth leaves and stalks which is most likely more favourable for the feeding of the *Calligypona pellucida* larvae.

From information on the attacking of some cultivated forms of grass grown in fodder mixtures, it is palpable that WSV can reach remarkable intensity of infected crops, depending on the population density and degree of infectiousness of the leafhopper vector. If the considerable destructivity of the studied virus for its hosts is taken into consideration, it is obvious that over-multiplying of *Calligypona pellucida* can cause certain depression in fodder crops when varieties of grass receptive to WSV form the whole or main part of the fodder mixtures.

References

- PRŮŠA, V.: Die sterile Verzweigung des Hafers in der Tschechoslowakischen Republik. — *Phytop. Ztschr.* **33** : 99—107, 1958.
- PRŮŠA, V., JERMOLJEV, E., VACKE, J.: Oat sterile dwarf virus disease. — *Biol. Plant.* **1** : 223—234, 1959.
- PRŮŠA, V.: Viróse Streifigkeit des Weizens — zweites Getreidevirus in der Tschechoslowakischen Republik. — *Preslia* **32** : 412, 1960a.
- PRŮŠA, V.: Symptome der virösen Streifigkeit des Weizens. — *Preslia* **32** : 412, 1960b.
- PRŮŠA, V.: Transovariable Übertragbarkeit des Virus der Weizenstreifigkeit. — *Preslia* **32** : 413, 1960c.
- PRŮŠA, V., VACKE, J.: Wheat striate virus. — *Biol. Plant.* **2** : 276—286, 1960a.
- PRŮŠA, V., VACKE, J.: Transmission of wheat striate virus by the eggs of the vector *Calligypona pellucida* FABR. — *Biol. Plant.* **2** : 325—334, 1960b.

- SLYKHUIS, J. T., WATSON, M. A.: Striate mosaic of cereals in Europe and its transmission by *Delphacodes pellucida* (FABR.). — Ann. appl. Biol. **46** : 542—553, 1958.
- VACKE, J.: Beitrag zur Kenntnis des Wirtskreises des Weizenstreifigkeitvirus. — Preslia **32** : 413, 1960.
- WATSON, M. A., SINHA, R. C.: Studies on the transmission of the European wheat striate mosaic virus by *Delphacodes pellucida* FABR. — Virology **8** : 139—163, 1959.

Й. Вацке, Вл. Прұша (Научно-исследовательский институт растениеводства, Чехословацкая академия сельскохозяйственных наук, Прага-Рузыне)
и Научно-исследовательский институт хмелеводства Чехословацкой Академии сельскохозяйственных наук, Жатец.)

Растения — хозяева вируса полосатости пшеницы

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (4) : 277—284, 1961

На сосание естественно инфицированного переносчика вируса полосатости пшеницы (ВПП) цикадки *Calligypona pellucida* F. реагировали характеристическими признаками в значительных размерах *Bromus arvensis* L., *B. mollis* L., *Avena fatua* L., *A. nuda* L. (Ное.), *Triticum aestivum* L. s. s., *T. compactum* Host., *T. dicoccum* Schrank., *Hordeum murinum* L., меньше потом *Lolium multiflorum* Lam., *L. perenne* L., *Bromus tectorum* L., *Poa annua* L., *Avena strigosa* Schreb., *A. sterilis* L., *Triticum spelta* L., *T. durum* Desf., *T. turgidum* L., *T. polonicum* L. Дальнейших 42 растительных вида из 6 семейств в этом опыте не заболело. Негативные результаты были получены а опыте с искусственным заражением *Phleum pratense* L., хотя у этого вида мы в природе наблюдали типичные признаки ВПП. Мы полагаем, что некоторые негативные результаты находятся в причинной взаимосвязи с значительно колеблющейся переносимей эффективностью вектора, известной уже из предыдущих работ.

В культурах кормовых злаков первого года выколашивания в местах с исключительной насыщенностью личинками *Calligypona pellucida* при полевых наблюдениях на некоторых местонахождениях Чешско-моравской возвышенности найдено более сильное поражение ВПП у *Lolium multiflorum*. Характеристические признаки ВПП обнаружены у *Phleum pratense*, *Lolium perenne* а *Bromus mollis*.

Biologische und elektronenmikroskopische Bestimmung der schweren Strichelkrankheit der Tomate

JAROSLAV BRČÁK

Phytopathologische Abteilung des Biologischen Institutes der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, Praha*

Eingegangen am 20. Dezember 1960

Biologická a elektronomikroskopická identifikace nekrotické čárkovitosti rajčat

Podle vzhledu nelze spolehlivě určit, čím jsou způsobeny nekrotické příznaky na listech a stoncích rajčat. Žádný ze zkoušených diferencních hostitelů (*Nicotiana glutinosa*, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium giganteum*) není použitelný pro rychlou přímou identifikaci nekrotické čárkovitosti rajčat (způsobené komplexním ochuravěním virem mozaiky tabáku a X-virem bramboru) a je třeba provést další pasáže k důkazu X-viru ze systémově infikovaných listů *N. glutinosa* nebo *D. stramonium*. Pomocí *G. globosa* a *Ch. giganteum* nemůžeme podle lézí oba viry spolehlivě rozlišit. Mikroskopické vyšetření inkluzí v trichomech rajčete může spolehlivě dokázat pouze přítomnost viru mozaiky tabáku. Naproti tomu jednoduchou přípravou preparátů pro elektronomikroskopické vyšetření (homogenát 1 cm² listové čepele v 10 ml vody) lze získat dostatečně kvalitní obraz částic obou virů, v němž je snadné revidovat délku vláknitých částic X-viru bramboru (515 × 13 mμ) porovnáním s tlustšími kratšími tyčinkami viru mozaiky tabáku (280 × 15 mμ).

Zusammenfassung

Nach den äusseren Symptomen ist die Bestimmung des Erregers der Erkrankung nicht zuverlässlich. Keinen von den Differentialwirten (*Nicotiana glutinosa*, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium giganteum*) kann man für eine schnelle direkte Bestimmung der schweren Strichelkrankheit der Tomate im Glashaus verwenden, welche durch kombinierte Infektion mit Tabakmosaik- und Kartoffel-X-Virus entsteht. Zur Identifizierung des

* Adresse: Na Karlovce 1, Praha 6-Dejvice.

X-Virus in den systemisch infizierten Blättern von *N. glutinosa* und *D. stramonium* ist es notwendig, weitere Übertragungen auf andere Differentialwirte zu vollziehen. An *G. globosa* oder *Ch. giganteum* vermögen wir keineswegs beide Viren nach den Lokalläsionen voneinander zuverlässig zu unterscheiden. Mit Hilfe der mikroskopischen Untersuchung der Haarzellen der infizierten Tomatenpflanzen kann man nur die Anwesenheit des Tabakmosaikvirus (nach den Einschlusskörpern) feststellen. Dagegen ist es leicht, durch eine einfache Herstellung der Präparate für die elektronenmikroskopische Untersuchung, und zwar durch die Zerreibung eines Quadratzentimeters Blattspreite in 10 ml Wasser genügend gute Bilder zu erhalten, aus denen sich auch die Teilchengrösse des fadenförmigen X-Virus ($515 \times 13 \text{ m}\mu$) im Vergleich mit der des stäbchenförmigen Tabakmosaikvirus ($280 \times 15 \text{ m}\mu$) leicht feststellen liess.

Einleitung

Die schwere Strichelkrankheit der Tomate ist eine ernste Erkrankung, welche durch eine kombinierte Infektion mit Tabakmosaikvirus (TMV) und Kartoffel-X-Virus entsteht. Diese Erkrankung wurde schon von VANTERPOOL (1926) und anderen Autoren analysiert. Die typischen Symptome der schweren Strichelkrankheit sind unregelmässige dunkle nekrotische Flecke in den Interkostalfeldern und längs verlaufende nekrotische Streifen an Stengel und Stielen (Abb. 1). Da es sich um eine nicht immer häufige Viruskrankheit handelt, muss betont werden, dass es auch symptomatisch ähnliche Erkrankungen gibt, welche z. B. nur durch einen Stamm des TMV oder durch das Kartoffel-X-Virus, oder aber auch durch Mischinfektionen des TMV mit dem Gurkenmosaikvirus und ausnahmsweise sogar durch die Bronzefleckenkrankheit (spotted wilt) (vergl. die Literaturangaben nach MACNEILL und ISMEN 1960) oder durch Mischinfektionen des X-Virus mit dem Gurkenmosaikvirus oder mit dem Ätzmosaikvirus (etch) (VALLEAU und JOHNSON 1930) verursacht werden und im Stande sind, bei den Tomatenpflanzen ähnliche nekrotische Symptome hervorzurufen. Die schwere Strichelkrankheit der Tomate pflegt nach MACNEILL und ISMEN (1960) bei den Temperaturen über 26°C maskiert zu sein.

Die Identifizierung der schweren Strichelkrankheit wird mit Hilfe der Differentialwirte *Nicotiana glutinosa* und *Datura stramonium* ermöglicht. Beide Arten reagieren auf das TMV durch die Bildung nekrotischer Lokalläsionen an den abgeriebenen Blättern und durch systemische Erkrankung durch das X-Virus; das X-Virus kann auf diese Weise aus einem Gemische mit TMV getrennt werden.

Wir haben die Möglichkeiten einer möglichst zuverlässigen Bestimmung der schweren Strichelkrankheit mit Hilfe der Testpflanzen, der mikroskopischen und elektronenmikroskopischen Untersuchung überprüft.

Abb. 1. Nekrotische Symptome der schweren Strichelkrankheit der Tomate, durch künstliche Infektion der Sämlinge mit TMV und Kartoffel-X-Virus hervorgerufen (Orig. J. Brěák).

Abb. 2. TMV-Lokalläsionen an den Blättern von *Gomphrena globosa*, acht Tage nach der Abreibung (Orig. J. Brěák).

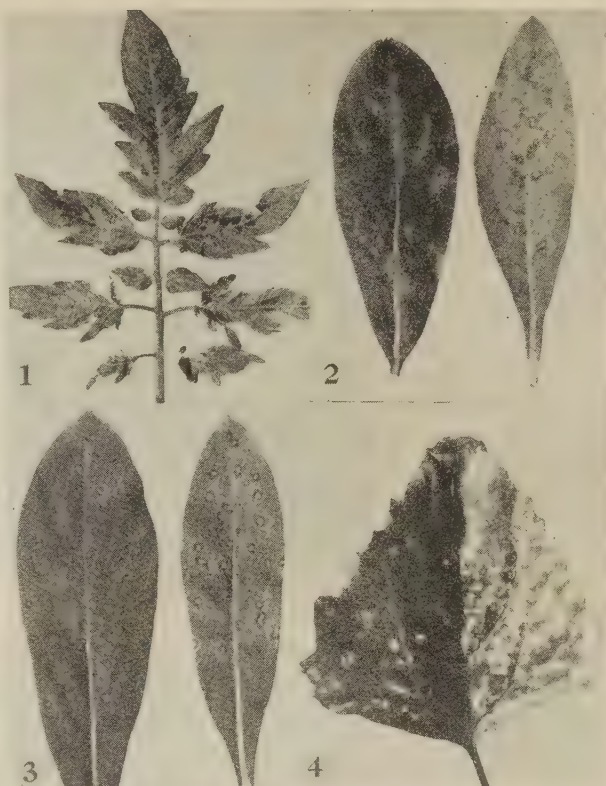


Abb. 3. Blätter von *Gomphrena globosa* mit Lokalläsionen, 13 Tage nach der Abreibung mit dem Kartoffel-X-Virus (Orig. J. Brěák).

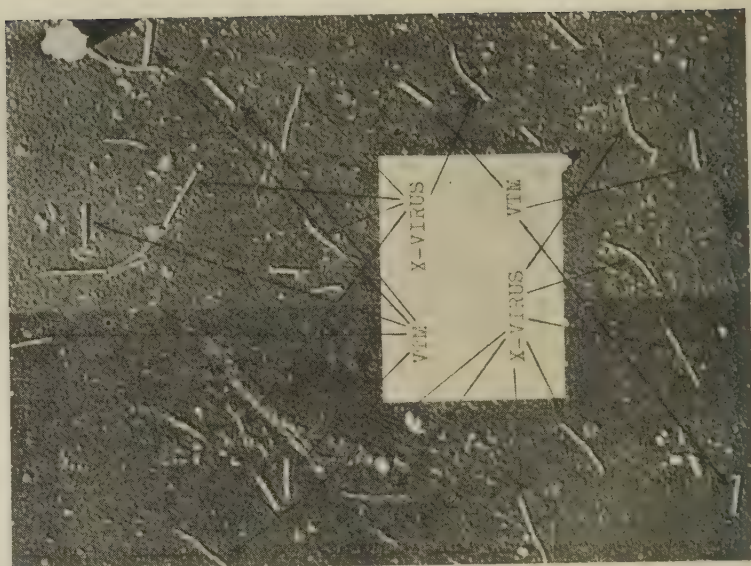
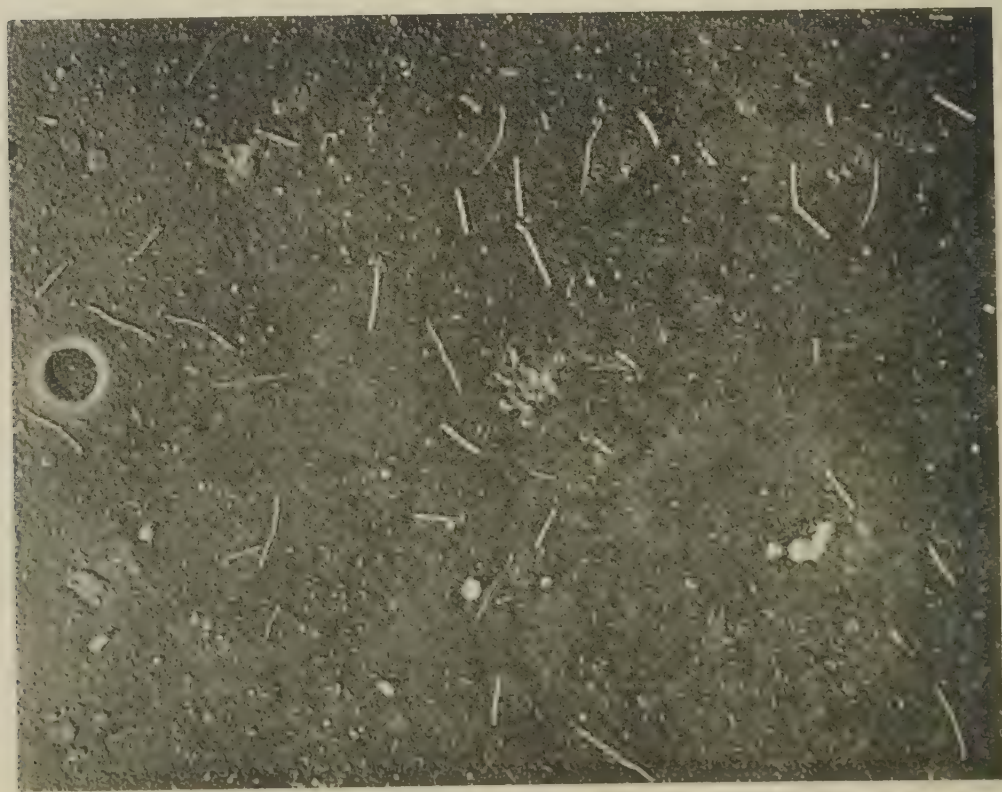
Abb. 4. Blatt von *Chenopodium giganteum* 13 Tage nach der Abreibung: links mit Kartoffel-X-Virus, rechts mit dem Rohsaft einer strichelkranken Tomatenpflanze (Orig. J. Brěák).

Ergebnisse der Untersuchung mit Hilfe der Differentialwirte

Die schwere Strichelkrankheit der Tomatenpflanzen haben wir im Glashaus durch künstliche Infektion der Sämlinge mit TMV und X-Virus hervorgerufen: beide Viren wurden getrennt in verschiedene Fiederblättchen derselben Pflanze eingepflanzt. Nachdem sich typisch nekrotische Symptome gut auszuprägen begonnen hatten (Abb. 1), wurden mechanische Abreibungen mit dem Homogenat der systemisch infizierten Blätter an den Testpflanzen durchgeführt. Zur selben Zeit wurden auch Abreibungen mit beiden genannten einzelnen und auch anderen Viren vorgenommen.

Es hat sich gezeigt, dass der Beweis einer Anwesenheit von TMV wohl leicht, der Beweis der Anwesenheit des X-Virus in den Gipfelblättern, nur nach den Symptomen zu urteilen — dagegen zweifelhaft ist; eine Infektion von *D. stramonium* mit zwei Stämmen des X-Virus pflegte wochenlang maskiert zu bleiben und zum Beweis ihrer Erkrankung musste eine weitere Übertragung an anderen Testpflanzen durchgeführt werden. Eine direkte Übertragung der schweren Strichelkrankheit von Tomaten auf *G. globosa* kann nicht empfohlen werden, weil die Lokalläsionen, welche das TMV an

Abb. 5. Elektronenmikroskopische Aufnahmen der TMV- und X-Virus-Partikel im verdünnten Homogenat des Blattes einer an schwerer Strichkelkrankheit leidenden Tomatenpflanze (21500 $\times$, Orig. J. Brčák).



Blättern dieser Pflanze hervorruft (Abb. 2), unter gewissen Bedingungen den durch das X-Virus verursachten (Abb. 3) sehr ähneln können. GOLDIN (1957) hat lokale und auch systemische Infektion von *G. globosa* mit TMV beschrieben und bewiesen, dass diese Testpflanze auch für eine Trennung des TMV von X-Virus verwendet werden kann. Dagegen aber wird *G. globosa* zum unverlässlichen Differentialwirt für das X-Virus (nach den Läsionen) im Falle einer Übertragung der schweren Strichelkrankheit. Wenn *N. glutinosa* (bzw. auch *D. stramonium*) auf eine Abreibung zuerst durch Läsionen und später durch systemische Erkrankung reagiert, ist eine weitere Übertragung des Virus aus systemisch infizierten Blättern auf andere Testpflanzen nötig, weil neben dem X-Virus manchmal auch andere Viren (z. B. das Gurkenmosaikvirus u. a.) starke systemische Symptome hervorrufen. Nach einigen Literaturangaben war es zu erwarten, dass auch *Chenopodium giganteum* (= *Ch. amaranticolor*) für eine rasche Unterscheidung des TMV und des X-Virus verwendbar wäre. Nach unseren Untersuchungen sind aber die nach der Abreibung entwickelten Lokalläsionen, welche beide Viren an der Blattspreite verursachen können, kaum zu unterscheiden (Abb. 4).

Cytologische Untersuchungen

Die cytopathologischen Veränderungen der strichelkranken Tomatenpflanzen haben schon SHAPOVALOV und DUFRENOY (1935) ausführlich beschrieben. Unsere mikroskopischen Untersuchungen bei künstlich mit der schweren Strichelkrankheit infizierten Tomatenpflanzen haben zu keiner genauen Bestimmung der Krankheit geführt. Auf Grund der Anwesenheit der Einschlusskörper kann man verlässlich nur auf die Anwesenheit des TMV schliessen.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen

Die oben erwähnten Tatsachen, d. h. besonders die Schwierigkeiten bei einer schnellen direkten Bestimmung der Strichelkrankheit mit Hilfe der Differentialwirte, haben uns zu Versuchen veranlasst, die Erkrankung bzw. die TMV- und X-Virus-Mischinfektion mit Hilfe des Elektronenmikroskopes nachzuweisen. Wir haben die einfachste Methode angewendet: 1 cm² der systemisch infizierten Blattspreite der strichelkranken Tomate wurde in 10 ml redest. Wasser zerrieben und direkt auf Objektträger gebracht. Nach der Schrägbedampfung mit Platin-Kohlenstoff untersuchten wir die Präparate mit dem Elektronenmikroskop Tesla BS 242. Auf diese Weise verfertigte Aufnahmen ermöglichten völlig die genaue Identifizierung der gemischten TMV- und X-Viruspartikeln. Starre und dickere Stäbchen des TMV sind leicht von den fadenförmigen, flexiblen, dünneren und längeren Partikeln des X-Virus zu unterscheiden (Abb. 5). Schon an wenigen Aufnahmen kann man die Identität der X-Viruspartikel beweisen und zwar durch einen Vergleich der Teilchengrösse des TMV ($280 \times 15 \text{ m}\mu$) mit jener des X-Virus

($515 \times 13 \text{ m}\mu$). Zum Schluss ist noch zu bemerken, dass wir in unseren Präparaten weder Veränderungen noch abnormale Gruppierungen der Partikel beider Viren beobachten konnten.

Für die Hilfe bei der Arbeit mit dem Elektronenmikroskop danke ich Kollegen O. Králík.

Literatur

- MACNEILL, B. H., ISMEN, H.: Studies on the virus-streak syndrome in tomatoes. — *Can. J. Botany* **38** : 9—20, 1960.
- SHAPOVALOV, M., DUFRENOY, J.: Cytologische Beobachtungen an einer Viruskrankheit vom Typus „streak“ oder „Strichel“. — *Phytopath. Z.* **8** : 297—301, 1935.
- VALLEAU, W. D., JOHNSON, E. M.: Some possible causes of streak in tomatoes. — *Phytopathology* **20** : 831—839, 1930.
- VANTERPOOL, T. C.: Streak or winter blight of tomato in Quebec. — *Phytopathology* **16** : 311—331, 1926.
- Гольдин, М. И.: О реакции *Gomphrena globosa* на вирус мозаики табака. — *Вопросы вирусологии* **2** (3) : 168—171, 1957. [GOLDIN, M. I.: Response of *Gomphrena globosa* to tobacco mosaic virus.]

Ярослав Брчак (Отдел фитопатологии Биологического института ЧСАН, Прага)

Биологическое и электрономикроскопическое определение некротической полосатости помидора.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) **3** (4) : 285—290, 1961

По внешнему облику нельзя надежно определить, чем вызваны некротические признаки на листьях и стеблях помидора. Ни один из следующих растений-индикаторов (*Nicotiana glutinosa*, *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *Chenopodium giganteum*) не применим для быстрого прямого определения некротической полосатости помидора (вызванной комплексным заболеванием вирусом табачной мозаики и X-вирусом картофеля): необходимо провести еще дальнейшие переносы для доказательства X-вируса из листьев *N. glutinosa* или *D. stramonium* после их общего заболевания. При помощи *G. globosa* и *Ch. giganteum* нельзя по местным некрозам оба вируса надежно друг от друга различить. Микроскопическое исследование включений в волосках помидора может надежно доказать только присутствие вируса табачной мозаики. При помощи простой подготовки препаратов для электрономикроскопических исследований (гомогенат 1 cm^2 листа в 10 мл воды) можно, однако получить достаточно яркую картину частиц обоих вирусов, в которой можно легко проверить длину нитевидных частиц X-вируса картофеля ($515 \times 13 \text{ m}\mu$) путем сравнения с более толстыми и короткими палочками вируса табачной мозаики ($280 \times 15 \text{ m}\mu$).

Anthocyanins of *Impatiens holstii*

E. KLOZOVÁ, K. ROKOSOVÁ

Department of Plant Physiology and Physiological Genetics, Institute of Biology,
Czechoslovak Academy of Sciences, Praha*

Received January 13, 1961

Antokyany u *Impatiens holstii*

1. Byly chromatografovány antokyany tří typů *Impatiens holstii*. Bylo zjištěno, že

typ A (*f. nana*, sorta Záře, s šarlatovými květy) obsahuje ve stonku — glukosidy malvidinu, v petalech — glukosidy pelargonidinu a peonidinu, v sepalech — glukosid malvidinu a cyanidinu, v pylu — glukosidy a snad i xylosidy malvidinu;

typ B (*f. nana*, sorta Záře, s červenofialovými květy) obsahuje ve stonku — malvidin, v petalech — peonidin, v sepalech — malvidin a cyanidin, v pylu — malvidin;

typ C (vzpřímený typ, s červenofialovými květy) obsahuje v petalech — malvidin a peonidin, v sepalech — malvidin a cyanidin, v pylu — malvidin.

U typů B a C cukry nebyly sledovány.

2. Jsou uvedeny úvahy o metabolismu těchto pigmentů v ontogenezi a fylogenezi některých druhů rodu *Impatiens*.

Summary

1. Chromatographic analysis of anthocyanins of three types of *Impatiens holstii* was carried out. It was found that

the type A (*f. nana*, variety Záře, with scarlet blossoms) contains in the stem — glucosides of malvidin, in the petals — glucosides of pelargonidin and paeonidin, in the sepals — glucosides of malvidin and cyanidin, in the pollen — glucosides and possibly also xylosides of malvidin;

the type B (*f. nana*, variety Záře, with red-violet blossoms) contains in the stem — malvidin, in the petals — paeonidin, in the sepals — malvidin and cyanidin, in the pollen — malvidin;

the type C (erect type, with red-violet blossoms) contains in the petals — malvidin and paeonidin, in the sepals — malvidin and cyanidin, in the pollen — malvidin.

Address: Na cvičišti 2, Praha-Dejvice.

In the types B and C, sugars were not analyzed.

2. The metabolism of these pigments in the ontogeny and in the phylogeny of some species of the genus *Impatiens* is discussed.

Introduction

It has been known that the anthocyanins occur in the most varied plant organs. They are most abundant in the blossoms but are present in other parts of the plant as well (stems, leaves, sepals); they were found even in the root tips (e.g. MOLISCH 1928) and in pollen grains (e.g. LUBLINER-MANOWSKA 1955).

The anthocyanins were identified in the blossoms and leaves of a variety of species, by different methods: colour reactions, distribution coefficients, (e.g. ROBINSON and ROBINSON 1931, 1932), spectral analysis and most of all paper chromatography (e. g. HAYASHI and YUKIHIDE, 1956, and others). On the other hand, the data on the occurrence of anthocyanins in other parts of the plant are rather scarce.

The physiological role of anthocyanins has not been solved so far. In order to elucidate the problem conclusively the maximum amount of experimental material is required, concerning the distribution of anthocyanins in the plants not only from the point of view of phylogeny, ontogeny and ecology, but also that of organ distribution. It is the aim of the present communication to identify the anthocyanins as genetic charactes of *Impatiens holstii*.

Most attention was devoted here to the type with scarlet blossoms, anthocyanized stem (particularly in the nodes), blue-red pollen and coloured sepals (*Impatiens holstii*, f. *nana*, variety Záře, designated as type A in the sequel). For the sake of comparison, an orientation analysis of two other types of this species with somewhat bluer blossoms was carried out (the type B belongs to the same variety as the type A, the type C differs from the two by its erect growth, by a slightly different red-violet tinge of the blossoms and by the fact that it does not have an anthocyanized stem). The origin of the type C could not be ascertained. The plants were reproduced vegetatively.

The anthocyanins analyzed here were derived from the petals, sepals, stem and pollen. According to ROBINSON and ROBINSON (1932) the blossoms of *Impatiens holstii* should contain pelargonidin (the orange-red variety) and paeonidin (the blue-pink variety); the authors, however, used only distribution coefficients to carry out their analyses. No more recent data could be found in the literature although some species of the genus *Impatiens* have received considerable attention of late (e.g. ALSTON and HAGEN 1957; HAGEN 1958; ALSTON 1958).

No data on the type of pigments in other parts of the plants could be found. The same holds for the analysis of the sugars present.

Methods

The anthocyanins were extracted from fresh material (blossoms, stem, pollen and sepals) with methanolic hydrochloric acid (1% solution). The extracts were purified by chromatography, by developing in two mixtures: 1st — butanol: 2N-HCl (1 : 1), 2nd — butanol: glacial acetic acid : water (4 : 1 : 5).

The individual spots were cut out, eluted with 50% methanol and hydrolyzed by 10-min. boiling with 20% HCl (with an equal or a two-fold volume). After cooling, the anthocyanidins were extracted with amylalcohol, the free sugars of the glucosides remaining in the aqueous phase.

The aglucones were identified chromatographically, using pure standards, in the descending direction: 1. glacial acetic acid : conc. HCl : water (30 : 3 : 10) — the Forestall mixture; 2. acetone : 5% HCl (1 : 1); 3. m-cresol : glacial acetic acid : water (25 : 1 : 24). As no synthetic standards or crystalline samples were available, anthocyanidins from plants, repeatedly identified previously, were used as standards* (their R_F values being compared with the data in the literature at the same time): malvidin from *Malva mauretanica* and *Impatiens balsamina*, paeonidin from *Paeonia officinalis*, cyanidin from *Rosa* sp., *Paeonia officinalis*, and pelargonidin from *Pelargonium zonale*.

The sugars were also analyzed chromatographically, the aqueous phase remaining after extracting the aglucone with amylalcohol being used here. At first, the solutions were evaporated to dryness over NaOH, the residue dissolved in water, desalted with a mixture of the cation exchange resin Zerolite 225 and of the anion exchange resin Zerolite E. The de-ionized sugars were again evaporated, dissolved in 50% ethanol and placed on Whatman paper No. 1. The samples were developed, together with the standards, in the following systems: 1. isobutanol : glacial acetic acid : water (4 : 1 : 1), in the descending direction, three or four times (MÁLEK et al. 1957); 2. butanol : pyridine : benzene : water (5 : 3 : 1 : 3), in the ascending direction, five times; 3. acetone : butanol : water (7 : 2 : 1), circular chromatography, twice.

The detection was carried out by the very sensitive but less specific method with AgNO_3 ; further with anilin phthalate and a mixture of dinitrophenylamine, anilin, ethylacetate and phosphoric acid (modification according to VÍTEK 1958).

Results and Discussion

1. Type A (with scarlet blossoms):

Petals: it was found with the aid of the above methods that the petals contain 2 types of aglucones: pelargonidin and paeonidin. The first and the third glucoside spots (counting from the start to the solvent front) correspond to paeonidin, the second and the fourth spots to pelargonidin. Glucose was found to be their sugar moiety.

Stem: malvidin and glucose were identified here.

Sepals: glucosides of malvidin and cyanidin were found here.

Pollen: malvidin could be detected, clearly accompanied by glucose, but in addition, the second and the fourth glycoside spots seemed to be accompanied by another corresponding to xylose.

2. Type B (with blue-violet blossoms):

This type contains only malvidin in the pollen and in the stem, while only paeonidin could be found in the petals. The sepals contained malvidin and cyanidin. No analysis of sugars was carried out.

* Other authors have worked along this line some time ago (WERCKMEISTER 1954).

3. Type C (erect, no anthocyanins in the stem):

The pollen of this type contains only malvidin, while the petals were found to contain malvidin and paeonidin. The anthocyanins of the sepals are of the same type as in the preceding types. No analysis of sugars was carried out. For the sake of clarity, the results are summarized in Table 1.

Thus it follows that the anthocyanins of the stem, pollen and sepals are of the same type (the sepals containing cyanidin in addition to the much greater amount of malvidin). The petals, however, contain completely different types of anthocyanins, namely pelargonidin and paeonidin. The general synthetic process of anthocyanins appears thus to differ in the petals in one of the last phases where the degree of hydroxylation and methoxylation is determined. A certain independence of the petals in the biological synthesis of the anthocyanins was demonstrated by KLEIN and HAGEN (1961) for petals of *Impatiens balsamina* grown *in vitro*; there the buds weighing 25 mg. possessed a finished apparatus for the formation of anthocyanins.

If the types of anthocyanidins of the analyzed types of *Impatiens holstii* are compared with those of different *Impatiens* species it may be seen that

Table 1

	Petals	Pollen	Stem	Sepals
Type A	Paeo, Pel, Glu	Mal, Glu, (Xyl)	Mal, Glu	Mal, Cya, Glu
Type B	Paeo	Mal	Mal	Mal, Cya
Type C	Paeo, Mal	Mal	—	Mal, Cya

Paeo — paeonidin, Pel — pelargonidin, Mal — malvidin, Cya — cyanidin, Glu — glucose, Xyl — xylose.

malvidin occurs here rather frequently (Table 1). ALSTON and HAGEN (1957) found it in 6 out of 12 genotypes tested, to occur in the petals of *Impatiens balsamina* and quite frequently also in the sepals (in 5 genotypes). Pelargonidin is also rather frequent (in 8 genotypes). On the other hand, cyanidin is rather rare in this species (in the sepals of 2 genotypes) but it was found e.g. in *Impatiens capensis* and *Impatiens pallida*. Paeonidin was found only in the sepals of four genotypes of *Impatiens balsamina*. According to the participation of the individual anthocyanin types in the species and types of *Impatiens* examined heretofore it appears probable that malvidin represents the fundamental type of anthocyanins, being the most complicated of them (it has two methoxy and one hydroxy groups in the side ring B). This assumption is supported by the fact that a more complex type of anthocyanin is always dominant with respect to a simpler one, as is known from genetic work. For a confirmation of this assumption, however, further investigation, especially of the genetic character, is necessary.

As concerns the sugar moieties of the anthocyanins, glucose could be demonstrated quite unequivocally (HAGEN 1960, found it also in the species

Impatiens balsamina). In some cases, a spot corresponding to arabinose could be found on the chromatograms but this appears to be an artifact. The occurrence of xylose in the pollen anthocyanins is rather probable (xylose being known to be frequently bound in the anthocyanins). It is not likely that we should be dealing here with freely occurring xylose as it could not be found in the samples where the anthocyanins were adsorbed on an ion exchange resin during desalting and where only the free sugars were chromatographed.

References

- ALSTON, R. E.: Leuco-anthocyanin synthesis in dark-grown seedlings of *Impatiens balsamina*. — *Am. J. Bot.* **45** : 289—294, 1958.
- ALSTON, R. E., HAGEN, C. W.: Chemical aspects of the inheritance of flower color in *Impatiens balsamina* L. — *Genetics*, **43** : 35—47, 1957.
- HAGEN, C. W.: Influence of genes controlling flower color on relative quantities of anthocyanins and flavonols in petals of *Impatiens balsamina*. — *Genetics*, **44** : 787—793, 1958.
- HAGEN, C. W.: Flavonoid compounds in a differentiating system; development of mature pigmentation in petals of *Impatiens balsamina* L. — *Plant Physiol. Suppl.* **35** : XVIII, 1960.
- HAYASHI, K., YUKIHIDE, A.: Studien über Anthocyane. XXVIII. Papierchromatographisches Übersicht der Anthocyane im Pflanzenreich (III). Über Anthocyane der Gebirgspflanzen. — *Bot. Mag. Tokyo*, **69** : 227—236, 1956.
- KLEIN, A. O., HAGEN, C. W.: Anthocyanin production in detached petals of *Impatiens balsamina*. — *Plant. Physiol.* **36** : 1—9, 1961.
- LUBLINER-MANOWSKA, K.: O biarwnikach ziarn pyłkowych. [On pollen grain pigments.] — *Acta Soc. Bot. Pol.* XXIV : 609—617, 1955.
- MÁLEK, I., BURGER, M., HEJMOVÁ, L., ŘÍČICA, J., FENCL, Z., BERAN, K.: Asimilace cukrů a kyselin při kontinuálním zdrojování neředěných sulfátových výluhů. [Assimilation of sugars and acids during continuous fermentation of undiluted sulphite liquor.] — *Čsl. mikrob.* **2** : 203, 1957.
- MOLISCH, H.: Red root tips. — *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* **46** : 311, 1928.
- ROBINSON, G. M., ROBINSON, R.: A survey of anthocyanins. I. — *Biochem. J.* **25** : 1687—1705, 1931.
- ROBINSON, G. M., ROBINSON, R.: A survey of anthocyanins. II. — *Biochem. J.* **26** : 1647—1664, 1932.
- VÍTEK, V.: Účinek inhibičních koncentrací kys. beta-indolyloctové na metabolismus klíčících rostlin. [The effect of inhibitory concentrations of beta-indoleacetic acid on the metabolism of seedlings.] — Thesis, Praha 1958.
- WERCKMEISTER, P.: Papierchromatographische Untersuchungen an Anthozyanen und chromochromen Begleitstoffen zur Frage der Blütenfarbenzüchtung. — *Züchter* **24** : 224—242, 1954.

Эва Клозова, Квета Рокосова (Отдел физиологии и физиологической генетики растений, Биологический институт ЧСАН, Прага)

Антоцианы у *Impatiens holstii*

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (4) : 291—296, 1961

1. Хроматографированы антоцианы трех типов *Impatiens holstii*:

тип «А» (форма папа сорт «Záře» с шарлаховыми цветками) содержит: в стебле глюкозид мальвидина, в лепестках глюкозиды пеларгонидина и пеонидина, в чашелистиках глюкозид мальвидина и цианидина, в пыльце глюкозиды, может быть, даже ксилозиды мальвидина.

тип «Б» (форма папа сорт «Záře» с краснофиолетовыми цветками): в стебле мальвидин, в лепестках пеонидин, в чашелистиках мальвидин и цианидин, в пыльце мальвидин.

тип «В» (прямостебельный тип с краснофиолетовыми цветками): в лепестках мальвидин и пеонидин, в чашелистиках мальвидин и цианидин в пыльце мальвидин.

Сахара типов «Б» и «В» не изучались.

2. Обсуждается вопрос метаболизма этих пигментов в онтогенезисе и филогенезисе некоторых видов рода *Impatiens*.

Abhängigkeit der Reproduktion des Tabakmosaik-Virus von den Veränderungen der Lage der wachsenden Triebe

JAROSLAV LIMBERK

Phytopathologische Abt. des Biologischen Institutes der Tschechosl. Akademie d. Wiss. Praha*

Eingegangen 18. Januar 1961

Závislost reprodukce viru tabákové mosaiky na změnách polohy rostoucích prýtů

1. Mechanickým ohnutím lodyhy *Nicotiana tabacum* L. se mění pohyb VTM a podmínky pro jeho rozmnožování v různých částech rostliny od její base k vrcholu i opačně.

2. Infikujeme-li listy ohnuté vrcholové části, projeví se infekce na listech na basi původní osy téměř za stejnou dobu jako když je inokulace provedena na této ose. Obvykle dojde k projevu infekce nejdříve na nejspodnějším výhonu, pak se případně šíří na výhony vyšší. Průměrná inkubační doba, již se pohybuje transport viru z ohnutého vrcholu do basální části osy, je 8 dní.

3. V některých případech dojde k infekci inokulovaného vrcholu. Jeho inkubační doba je však značně delší — 18 i více dnů.

4. U skupin, kde byla provedena inokulace na výhony u base původní osy, je průběh infekce jiný. Ve všech případech se příznaky infekce projevují nejdříve na nejvyšších výhonech svislé osy, a to za 7 dní. Nižší výhony (i ty, které byly inokulovány) jsou napadeny později. Teprve za 63 dnů se projeví příznaky infekce na původních vrcholech rostlin.

5. Kvalitativní zkouška svědčí o tom, že mechanický ohyb brzdí množení a i pohyb VTM v *N. tabacum*. Ukázalo se, že koncentrace viru je v původní ose vyšší o 95 až 98 % než ve vrcholové části, která byla ohnuta.

6. Umělým zásahem, ohnutím, není však brzděn pohyb viru z vrcholu ke kořenům.

Zusammenfassung

Durch mechanisches Umbiegen des Stengels von *Nicotiana tabacum* L. verändert sich die Wanderung von TMV sowie die Bedingungen seiner Vermehrung in verschiedenen Teilen der Pflanze von ihrer Basis bis zu ihrem Scheitel und umgekehrt.

* Adresse: Na Karlovce, Praha 6-Dejvice.

Wenn wir die Blätter des umgebogenen Scheitelteiles infizieren, tritt die Infektion an den Blättern der Basis der ursprünglichen Achse nahezu nach einem gleichen Zeitraum in Erscheinung, nach welchem sie zu beobachten wäre, wenn man die Inokulation an dieser Achse durchgeführt hätte. Gewöhnlich tritt die Infektion zuerst an den untersten Trieben in Erscheinung und verbreitet sich dann gegebenenfalls an höheren. Die durchschnittliche Zeitspanne der Inkubation, innerhalb derer sich der Transport des Virus aus dem umgebogenen Scheitelteil in die basalen Teile fortbewegt, beträgt acht Tage.

In einigen Fällen kommt es zur Infektion des inokulierten Scheitels, dessen Inkubationsfrist jedoch bedeutend länger ist, nach 18 und mehr Tagen.

Bei den Gruppen, bei welchen die Inokulierung an den Trieben der Basis der ursprünglichen Achse vorgenommen worden ist, verläuft die Infektion anders. In allen Fällen traten die Anzeichen der Infektion zuerst an den höchsten Trieben der lotrechten Achse und zwar nach 7 Tagen in Erscheinung. Niedrigere Triebe (auch solche, die inokuliert worden waren) verspäteten sich auffallend. Erst nach 63 Tagen treten die Symptome der Infektion an den ursprünglichen Scheiteln einiger Pflanzen in Erscheinung. Quantitative Tests erweisen, dass eine mechanische Verbiegung die Vermehrung und Wanderung des TMV in *N. tabacum* L. hemmt. Es hat sich gezeigt, dass die Konzentration des Virus in der ursprünglichen Achse um 95 bis 98% höher ist, als in einem umgebogenen Scheitelteil.

Die Fortbewegung des Virus von den Scheiteln zu den Wurzeln wird jedoch durch den künstlichen Eingriff des Umbiegens nicht gehemmt.

Einleitung

Die ersten Symptome einer systemischen Erkrankung treten bei Tabak nach einer Infektion mit TMV in wachsenden Scheitelteilen in Erscheinung, die vom beimpften Blatte erheblich weit entfernt sind. Im Falle, dass die Pflanze auch noch Seitentriebe entwickelt hat, treten Erscheinungen unterhalb des Scheitels, gewöhnlich später auch unterhalb der Inokulationsstelle in Erscheinung.

Es ist auch bekannt, dass die Intensität der Symptome in geradem Verhältnisse zur Vermehrung des Virus in den Blättern steht (BANCROFT, POUND 1954). VTM gelangt auf dem Wege der Leitbündel in den Scheitel der Pflanze. Vielleicht besitzt hier auch die β -Indolylessigsäure eine sekundäre Bedeutung für die Vermehrung des Virus, welche sich in den Vegetationspunkten bildet. β -Indolylessigsäure hemmt das Wachstum der Seitentriebe. Wenn wir aber nach einer Dekapitierung auf der Schnittfläche anstelle des abgeschnittenen Scheitels eine Paste auftragen, die β -Indolylessigsäure enthält, verhält sich die Pflanze anders. Innerhalb der Zeitspanne in der sich die β -Indolylessigsäure entweder zersetzt oder verbraucht wird, schlagen die Seitentriebe nicht aus und die Pflanze verhält sich so, als hätte sie einen normalen Vegetationspunkt (LIMBERK 1954).

Wenn wir eine Tabakpflanze dekapitieren und sie zugleich mit VTM infizieren, treten die Symptome der Infektion in den meisten Fällen zuerst am höchstgelegenen Triebe auf und erst dann an den niedriger gelegenen Scheiteln und auch unterhalb der Impfstelle.

Das Virus vermehrt sich am raschesten in wachsenden Geweben. β -Indolyl-essigsäure, die das Wachstum neuer Triebe hemmt, verlangsamt dadurch auch das Wachstum neuer Zellen und zugleich so auch die Vermehrung des Virus. GRAINGER (1933) vermeint, dass die Vermehrung des Virus unabhängig zu sein scheint vom mechanischen Transpirationsstrom und von der Translokation der Strömung. Viele andere Autoren jedoch stimmen darin überein, dass der stärkste Transport des Virus im Phloëm vor sich geht, wo es in den Nährstrom gelangt und mit demselben in Partien transportiert wird, welche die Nährstoffe nutzen oder lagern (UPPAL 1934, cit. CAPOOR). Unter bestimmten Bedingungen können sich die Viren in den Phloëmen auf grosse Entfernungen hin gegen den Strom der Glycide bewegen (ROBERTS 1952).

Beim Eindringen in den Stengel bewegen sich die Virusteilchen allermeist zuerst in der Richtung nach unten, weil dies die Richtung ist, in der sich der Nährstrom meist durch das Phloëm bewegt, aber es kann diese Anfangsbewegung auch in der anderen Richtung, also nach oben, vor sich gehen (CAPOOR 1941). Bei dieser Verbreitungsweise der Infektion können ganze Teile der Achsen frei von Infektivität bleiben (ZECH 1952).

CALDWELL (1934) untersuchte die Fortbewegung des Virus in den Pflanzen und die Ergebnisse, die er sammelte, erwiesen, dass sich das Virus auch unabhängig von den Stromrichtungen in den lebendigen Teilen der Leitbündel bewegen kann. Auch unsere Ergebnisse (LIMBERK und BRČÁK 1955, BRČÁK und LIMBERK 1958) zeugen von einem Durchgang von TMV auch durch einen übersensitiven Wirt (*N. glutinosa*) bei einer Pfropf-Symbiose mit *N. tabacum* L. Aufgabe unserer Arbeit war festzustellen, auf welche Weise sich eine Veränderung der Bedingungen geltend macht, die den normalen Nährstrom hemmt.

Ziel und Methodik der Versuche

Wir verwendeten *Nicotiana tabacum* L., bei welcher Pflanze wir die Achsen umbogen. Die Versuchspflanzen hatten eine durchschnittliche Höhe von 60 cm und wurden im Glashause in Blumentöpfen gezogen. Die Pflanzen bogen wir annähernd in der Mitte der Achse um und damit sie sich in dieser Lage halten konnten, wurden sie mittels Draht so befestigt, dass ihr Scheitelpunkt zur Erde wies (Abb. 1). Der wachsende Teil der Pflanzen richtete sich nach einigen Tagen auf, sodass eine Art S-Form der Achse gebildet wurde. Nach der Dekapitierung wuchsen jedesmal mehrere Seitenruten aus und der neugebildete Scheitelpunkt -C- blieb stets in der Höhe der Biegung (Abb. 1). Die Pflanzen wurden in mehrere Gruppen eingeteilt. Die eine wurde gleich nach der Dekapitierung inokuliert, die zweite nach dem Ausschlagen der Seitentriebe. In jeder Gruppe wurde ein Teil der Pflanzen in ein erwachsenes Blatt an der ursprünglichen Achse am unteren Teile der Pflanze A und ein zweiter Teil am neugewachsenen Scheitelpunkte C inokuliert. Bei allen Versuchen arbeiteten wir mit dem Alke-Stamm TMV, der von BLATTNÝ (1955) beschrieben worden ist.

Ergebnisse

1. Versuch (durchgeführt im August).

Bei 60 cm. hohen Tabakpflanzen wurden die Scheitel amputiert. Die Tabakpflanzen wurden umgebogen und zugleich an der ursprünglichen, schiefliegenden Achse A inokuliert. Nach 12 Tagen wuchsen neue Triebe auch an der Stelle der künstlichen Umbiegung B und an ihnen traten zugleich mit den Erscheinungen einer systemischen Infektion der Blätter am richtungsmässig unveränderten Teile der Achse A solche systemische Infektionen in Erscheinung.

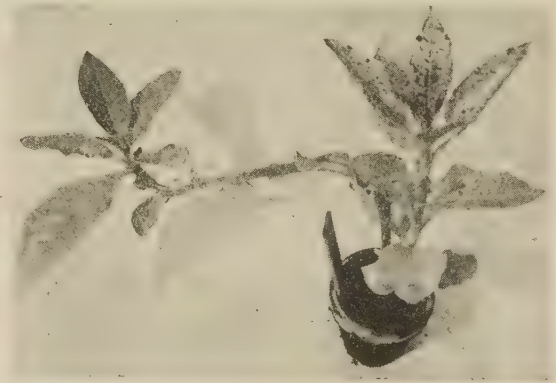
An den Trieben des ursprünglichen Scheitels C, der nach dem Abbiegen langsamer weiterwuchs, zeigten sich keinerlei Symptome. Erst nach weiteren 29 Tagen traten bei einer von vier Pflanzen die ersten schwachen Symptome einer systemischen Infektion in Erscheinung, wobei der Scheitel niedriger lag, als die aus dem abgebogenen Teile B gewachsenen Triebe. Es muss bemerkt werden, dass die Scheitel C weiterwuchsen, auch wenn sie niedriger lagen als der Trieb, der an dem abgebogenen Teile der Achse B die Aufgabe des terminalen Vegetationspunktes übernommen hatte.

2. Versuch (durchgeführt im September).

Neun Tabakpflanzen wurden entblättert, dekapitiert und abgebogen. Nach dem Ausschlagen der Triebe nach 25 Tagen wurden die Pflanzen in zwei Gruppen geteilt und so inokuliert, dass die Gruppe I (4 Pflanzen) in den Scheitel C, die Gruppe II (5 Pflanzen) in den ursprünglichen, aufgerichteten Achsenteil A geimpft wurden. Acht Tage nach der Beimpfung (32 Tage nach der Verbiegung) treten bei Gruppe I bei zwei Pflanzen systemische Erscheinungen am beimpften Scheitel C in Erscheinung und gleichzeitig oder höchstens mit zweitägiger Verspätung auch an den übrigen Trieben des ursprünglichen Achsenteiles A (bei allen Pflanzen). Aus Pflanzen dieser Gruppe wurde der relative Titer des Saftes von Blättern des künstlich abgebogenen Achsenteiles B und des ursprünglichen Achsenteiles A mit dem Titer des Saftes aus Blättern vom abgebogenen Scheitelteile C verglichen. Der Vergleich wurde an *N. glutinosa* durchgeführt. In dieser Gruppe wurden zwei Pflanzen untersucht. Die Titer in den Blättern des Triebes an der Abbiegung und am Scheitel C unterschieden sich erwiesenermassen nicht. Das Ergebnis zeigt, dass das Virus vom Scheitel aus basipetal bis zu den Wurzeln wandert.

Gruppe II. Es wurde ein Blatt am aufgerichteten Achsenteile A untersucht. Auch bei diesen Pflanzen kam es 8 Tage nach der Inokulierung zur Infektion wie bei Gruppe I, nur mit dem Unterschiede, dass sich die Symptome an den inokulierten Trieben und oberhalb zeigten und zwar im abgebogenen Achsenteil B. An den Scheiteln C zeigten sich keine Symptome und nach weiteren elf Tagen, zu einem Zeitpunkte, als die Pflanzen zum Zwecke der Saftgewinnung liquidiert wurden, waren sie noch immer nicht zu bemerken. Wiederum wurden zwei Pflanzen untersucht. Bei der ersten lag die Konzentration des Virus im Scheitel C um 95.5% tiefer als im Triebe an der abgebogenen Achse B. Bei der zweiten betrug der gleiche Unterschied sogar 96%, was erweist, dass VTM in die Scheitelrute erheblich langsamer eingedrungen ist.

Abb. 1. Künstlich umgebogene Tabakpflanze nach der Dekapitierung mit frisch ausschlagenden Scheiteln. A — Ursprüngliche, vertikale Achse. B — Achsenteil in der Abbiegung. C — Rutentrieb, der den ursprünglichen, dekapitierten Scheitel ersetzt. Diese Pflanze ist am neugewachsenen Scheitel inokuliert worden (Foto J. Kubeč).



Aus diesen Ergebnissen geht hervor, dass der Titer auch in den zuletzt erörterten Fällen gleich sein müsste, wenn die Übertragung und die Vermehrung des Virus lediglich vom Säftestrom abhinge, weil die Säfte ja bis in den Scheitel C steigen; bei der II. Gruppe war dies aber nicht der Fall: Während das Virus bei der I. Gruppe aus dem abgebogenen Scheitel C verhältnismässig rasch in Richtung der Wurzeln zurückstieg, stieg es bei Gruppe II. vorwiegend in den Scheitel B und wurde nur in unbedeutender Menge im Scheitel C festgestellt.

3. Versuch (durchgeführt im August).

Dieser Versuch wurde auf ähnliche Weise an Tomatenpflanzen durchgeführt. Die Tomatenpflanzen wurden in der Phase des fünften, rechten Blattes dekapitiert. An jeder Pflanze wurden zwei der höchsten, wachsenden Triebe belassen. Im Zeitpunkte, da die Triebe eine Höhe von cca 20 cm erreicht hatten, wurden die Tomaten mit TMV inokuliert. Der erste Trieb wurde im Wachstum nicht behindert, der zweite aber so abgebogen, wie wir dies bei Tabak beschrieben haben. In den Versuch wurden 15 Pflanzen einbezogen.

Nach 14 Tagen traten an einigen Pflanzen Anzeichen einer systemischen Infektion in Erscheinung, jedoch nur an jenen Trieben, die aufrecht wuchsen. Nach weiteren 6 Tagen zeigten alle Pflanzen starke Anzeichen einer Infektion. Jedoch ebenfalls nur an Trieben, die nicht umgebogen worden sind. Bei den abgebogenen Trieben wurde auch nicht in einem einzigen Falle ein Kennzeichen von Infektion festgestellt. Nach weiteren acht Tagen zeigten sich bei drei Pflanzen, die nur wenig abgebogen worden sind, oder wo der abgebogene Trieb üppiger nach oben schoss, Kennzeichen einer schwachen systemischen Infektion.

4. Versuch (durchgeführt im Mai).

Ein Jahr darauf wurde eine neue Serie von Versuchen angelegt. Tabakpflanzen, über 50 cm hoch, wurden entblättert und dekapitiert. Zugleich wurden sie in scharfem Bogen so abgebogen, dass ihr Scheitel gegen die Erde wies. Nach dem Ausschlagen neuer Triebe (nach 29 Tagen) wurde eine Inokulierung mit VTM durchgeführt.



Abb. 2. Pflanze, inokuliert an der Base der ursprünglichen Achse A. (Foto J. Kubeč).

Die Gruppe III umfasste 14 Pflanzen. Die Beimfung wurde am Scheitel C durchgeführt. In dieser Gruppe kam es acht Tage nach der Inokulierung zum ersten Anzeichen einer Infektion. In allen Fällen trat sie an den Trieben an der Pflanzenbasis A früher in Erscheinung, als am inokulierten Scheitel C. Erst dann stieg die Infektion in weiteren Trieben empor. Die Zeitspanne des Auftretens der Infektionssymptome zwischen den unteren und den höchsten Trieben der aufrechten Achse A betrug 5—10 Tage (Abb.1). Nach einer Inkubationsspanne von 15 bis 21 Tagen nach der Infektion traten Symptome an sechs Vegetationspunkten C (Scheiteln C), also an den Inokulationsstellen auf.

Die Gruppe IV. umfasste 19 Pflanzen. Es wurden die Triebe an der Basis der Pflanze A inokuliert. In diesser Gruppe hatten sieben Tage nach der Inokulation acht Pflanzen die Symptome stets an Trieben, die höher lagen, als die Inokulationsstellen. Bis zu 20 Tagen kam es bei allen Pflanzen zu Infektionssymptomen an wachsenden Trieben der Achse A. Bis zu diesem Zeitpunkt griff die systemische Infektion bei keiner Pflanze auf den Scheitel C über (Abb. 2). Erst nach 63 Tagen trat eine deutliche Infektionserscheinung bei vier Pflanzen im Scheitel der Zweigrute C (des Triebes C) auf.

Bis zur Liquidation der Pflanzen (63 Tage nach der Inokulierung) traten weitere Infektionserscheinungen bei dieser Gruppe nicht mehr auf. Bei manchem der Fälle lag der Scheitel C zwar niedriger als der abgebogene Teil B, dennoch wurde er aber manchmal von Infektionen befallen, während es bei anderen Scheiteln, die gut wuchsen und die abgebogene Achse überragten, zu keiner Infektion kam.

5. Versuch (durchgeführt im Juli)

Die Zubereitung der Pflanzen und der Arbeitsvorgang war der gleiche, wie bei den Versuchen 3. und 4.

In der Gruppe V. wurden acht Pflanzen am Scheitel C inokuliert. Die ersten Symptome einer Infektion zeigten sich an der aufgerichteten Achse A nach 12 Tagen. Die Infektion wanderte auf gleiche Weise wie beim vorher-

gehenden Versuche 3. Bei zwei Scheiteln C kam es nach 49 Tagen zur Infektion.

In der Gruppe VI. wurden elf Pflanzen an Basis-Trieben inokuliert. Die ersten Symptome traten nach 5 Tagen in Erscheinung und der Vorgang der Infektion war der Gleiche wie bei Versuch 4. Zu einer Infektion des Scheitels C kam es bei 3 Pflanzen nach 48 Tagen.

Auch bei diesen Pflanzen wurde der Titer des Saftes aus den Blättern vom Scheitel C mit dem des Saftes aus den Blättern von der Achse A verglichen. Es wurden stets Pflanzen ausgewählt, die an der aufrechten Achse voll entwickelte Infektionssymptome aufwiesen. Es ist festgestellt worden, dass in einem der untersuchten Scheitel C verhältnismässig um 96% und im anderen um 98% weniger Virusmenge vorhanden war als in den Trieben an der Achse B.

Diskussion

Nach dem Abbiegen von *Nicotiana tabacum*-Pflanzen kam es zu einer Veränderung des Infektionsverlaufes. Aus unseren Versuchen geht hervor, dass durch Abbiegung entweder die Wanderung oder die Vermehrung des Virus geändert wird. Es machte sich vor allem die Tiefe des abgebogenen Teils und die Länge der Pflanze geltend.

Im Einklang mit den angegebenen Arbeiten haben wir festgestellt, dass das Virus bei der Gruppe, bei welcher der ursprüngliche Scheitel inokuliert worden war, basipetal verhältnismässig rasch und in beachtlicher Menge in der Richtung der Wurzeln wandert. Dabei bleibt der inokulierte Scheitel in manchen Fällen ohne Infektionserscheinung. Demgegenüber waren die Ergebnisse bei Gruppen in denen der untere Teil der ursprünglichen Achse inokuliert worden ist, andere. Aus der Feststellung der relativen Virusmenge ergibt sich das Postulat der Gleichheit der verglichenen Titer beider Fälle unter der Voraussetzung der Abhängigkeit der Virusvermehrung ausschliesslich vom Säftestrom, weil die Stoffe desselben bis in den ursprünglichen Scheitel steigen. Die unterschiedliche Reproduktion des Virus in den Scheiteln B und C würde dann auf physiologische Unterschiede beider Scheitel hinweisen. Es ist möglich, dass das Auxin, welches aus den Scheiteln in die Wurzeln strömt, die Geschwindigkeit der Virusbewegung fördert und zur Schaffung physiologischer Bedingungen für die Vermehrung des Virus in den Pflanzen mithilft. Bis zu gewissem Grade ist ein ähnlicher synergistischer Effekt der Wachstumsstoffe von Tumor-Virus und Steinklee (*Melilotus officinalis* L.) von BLACK und LEE (1954) festgestellt worden. Es wäre nötig zu prüfen, ob β -Indolylessigsäure aus den Wurzeln auch in die abgebogenen Scheitel strömt.

Vielleicht wäre es möglich, in der bekannten Abbiegung von Apfelbaumzweigen, die infolge der Veränderung des Stromes der Assimilate und Auxine zu frühzeitigem und reichlicherem Blütensatz und zu grösserer Fruchtbarkeit veranlasst werden, eine Analogie zu sehen.

Literatur

- BANCROFT, J. B., POUND, G. S.: Effect of air temperature on multiplication of tobacco mosaic virus in tobacco. — *Phytopathology* **44** : 481—482, 1954.
- BLACK, L. M., LEE, C. L.: Synergistic effect of growth-regulating chemicals and tumefacient virus on plant cells. — *Phytopathology* **44** : 482, 1954.
- BLATNÝ, C.: Alke-kmen viru obyčejné tabákové mosaiky (TMV 1). [Alke-Stamm des Virus des gewöhnlichen Tabakmosaiks (TMV 1).] — *Sborník prác, o tabáku* 231—264, Bratislava 1955.
- BRČÁK, J., LIMBERK, J.: Změny reakce tabáku na infekci *Nicotiana virus* vyvolané roubovou symbiosou *Nicotiana tabacum* L. a *N. glutinosa* L. [Veränderungen der Reaktion von Tabak auf eine Infektion mit *Nicotiana virus* L. hervorgerufen durch Pfropfsymbiose von *Nicotiana tabacum* L. und *N. glutinosa* L.] — *Čs. Biologie (Praha)* **7** : 382—388, 1958.
- CALDWELL, J.: The physiology of virus diseases in plants. V. The movement of the virus agent in tobacco and tomato. — *Ann. appl. Biol.* **21** : 191—205, 1934.
- CAPOOR, S. P.: The movement of tobacco mosaic virusses and potato virus X through tomato plants. — *Ann. appl. Biol.* **36** : 307—319, 1949.
- GRAINGER, J.: The movement of tobacco mosaic virus in its host. — *Ann. appl. Biol.* **20** : 236—257, 1933.
- LIMBERK, J.: Vliv heteroauxinu na pohyb Alke-kmene obyčejné tabákové mosaiky (TMV) v tabákové rostlině. [Einfluss des Heteroauxins auf die Wanderung des Alke-Stammes der gewöhnlichen Mosaikkrankheit von Tabak (TMV) in der Tabakpflanze.] — *Čs. Biologie (Praha)* **3** : 303—304, 1954.
- LIMBERK, J., BRČÁK, J.: Vliv vegetativního zblížení na infekci *Nicotiana tabacum* L. a *N. glutinosa* L. virem tabákové mosaiky. [Einfluss der vegetativen Annäherung auf die Infektion von *Nicotiana tabacum* L. und *N. glutinosa* L. mit Tabakmosaik-Virus.] *Čs. biologie (Praha)* **4** : 243—250, 1955.
- ROBERTS, D. A.: The movement of tobacco mosaic virus within the Plant. — *Ann. appl. Biol.* **21** : 90—111, 1934.
- UPPAL, B. N.: *Indian J. Agric. Sci.* **4** : 865, 1934 (cit. BAWDEN 1950).
- ZECH, H.: Untersuchungen über den Infektionsvorgang und die Wanderung des Tabakmosaikvirus im Pflanzenkörper. — *Planta* **40** : 461—514, 1952.

Я. Лимберк (Отдел фитопатологии, Биологический институт, Чехословацкая академия наук, Прага)

Зависимость репродукции вируса на изменениях положения вегетативных верхушек

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) **3** (4) : 297—304, 1961

1. Механическим согнутием стебля *Nicotiana tabacum* L. меняется движение ВТМ и условия для его размножения в разных частях растения с базы до верхушки и наоборот.

2. Если заразить листья согнутой верхушечной части, то инфекция проявится на листьях на базе первичной оси почти в то же время как в случае проведения инокуляции на этой оси. Обычно инфекция проявляется прежде всего на самом нижнем побеге, и потом проявляется на выше стоящих побегах. Среднее инкубационное время транспорта вируса из согнутой верхушки в базальную часть оси — 8 дней.

3. В некоторых случаях имеет место инфекция инокулированной верхушки. Однако, инкубационный период значительно задержится — 18 и больше дней.

4. В случае групп, в которых проведена инокуляция на побеге у базиса первичной оси, ход инфекции другой. Во всех случаях признаки инфекции проявляются прежде всего на выше стоящих побегах вертикальной оси на 7 день. Ниже стоящие побеги (и те, которые инокулированы) заражаются позднее. Только спустя 63 дня проявились признаки инфекции на исходных вегетационных верхушках нескольких растений.

5. Количественные данные свидетельствуют о том, что механическое сгибание тормозит размножение и движение ВТМ в *N. tabacum*. Оказалось, что концентрации вируса в исходной оси на 95—98%, выше по сравнению с верхушечной частью.

6. Искусственным вмешательством, согнутием, однако, не торможено передвижение вируса из верхушечной части к корням.

The Activity of Trypsin Inhibitor and its Correlation with the Oil Content in *Glycine*

TOMÁŠ GICHNER

Department of Genetics, Faculty of Natural Science,
Charles University, Praha*

Received January 21, 1961

Aktivita trypsin-inhibitoru v semenech některých sort a druhů soje a korelace mezi aktivitou trypsin-inhibitoru a obsahem tuku

1. Byla zjištěna vysoká pozitivní korelace mezi aktivitou trypsin-inhibitoru a obsahem tuku u jednotlivých odrůd a druhů.

2. Korelace mezi aktivitou trypsin-inhibitoru a obsahem tuku uvnitř jednotlivých odrůd nebyla průkazná.

3. Osazení neobsahuje trypsin-inhibitor.

4. Podle aktivity trypsin-inhibitoru a obsahu tuku lze rozdělit sledované formy do 3 skupin, odpovídajících zkoumaným druhům: *Glycine hispida*, *Glycine gracilis* a *Glycine ussuriensis*. Výjimku tvoří odrůda Sioux, která podle sledovaných chemických znaků zapadá do okruhu *G. gracilis*, ačkoliv morfologicky patří mezi *G. hispida*.

Summary

1. A highly positive correlation has been found to exist between the activity of the trypsin inhibitor and the oil content of some varieties and species of soybean.

2. No correlation could be demonstrated between the activity of the trypsin inhibitor and the oil content within individual varieties.

3. The seed coat contains no trypsin inhibitor.

4. According to the activity of the trypsin inhibitor and the oil content the examined forms can be divided into 3 groups corresponding to the species

* Present address: Biologický ústav ČSAV, Na evičišti 2, Praha-Dejvice.

tested: *Glycine hispida*, *Glycine gracilis* and *Glycine ussuriensis*. The variety Sioux forms an exception in conforming to the chemical characteristics of the *Glycine gracilis* group although it belongs to *G. hispida* morphologically.

Introduction

It is known that the nutritive value of the natural soybean protein is much lower than that of animal protein. The protein efficiency ratio for soybean protein (PER) is 0.5—1.5 (EVERSON and STEENBOCK 1944); the PER value for hen's egg white is approximately 4 (BLOCK and MITCHELL 1946—47). The low PER of soybean protein can be explained in various ways:

a) by the low content of sulphur-containing amino acids (MITCHELL and BLOCK 1946);

b) by the presence of toxic soyin (LIENER and PALLASCH 1952);

c) by the presence of the heat-labile trypsin inhibitor (hereafter designated as TI).

HAM and SANSTEDT (1944) and BOWMAN (1944) independently found a substance in soybeans which inhibits trypsin; KUNITZ (1946, 1947) described its purification and physicochemical characteristics. On the basis of the thermostability of TI (GAITONDE and SOHONIE 1952, FRANĚK 1957) and the increase in the nutritive value of soybeans after heating, it can be deduced that the presence of TI may be one of the most important causes of the low nutritive value of soybean protein.

It was the objective of the present study to find out whether there is any difference in the TI content among the different varieties and species of soybeans and whether there is any correlation between TI and the content of other chemical components of the seeds. An established correlation would facilitate the breeding and selection of varieties with low or high TI contents.

Material and Methods

For the present work, varieties with large differences in oil and protein content were selected. The majority of the varieties from abroad were not suitable for testing, as the plants had good vegetative growth but did not flower. The Sioux variety, which grows in the most northern parts of the U.S.A. and which is even more matutinal than our varieties, formed an exception. *Glycine ussuriensis* ripened at the same time as our varieties, *Glycine gracilis* ripened very late and had to be transplanted into pots for ripening in a green-house. For a survey of all varieties tested, the time and method of their sowing and the time of flowering and ripening, see GICHNER (1959).

For this experiment the following varieties were used: Kroměřížská žlutá (further Kroměříž), Dieckmanova černá (further D. Č.), Brillmayerova Giesenská (BG2). These varieties were obtained from the Research Institute for Cereal Culture at Kroměříž. The Sioux variety, *Glycine gracilis*, and the wild soybean *Glycine ussuriensis* (uss) were obtained from the Agriculture Research Service, Beltsville, U.S.A. The tested varieties and species were cultivated in the Genetic Garden in Prague in 3 repetitions of 10 test plants. The seeds were ground three times in a spice-mill in order to grind the meal as finely as possible. It was necessary to do this under standard conditions to avoid rather considerable errors in the determination of TI activity.

The soybean meal thus obtained was divided into two parts; one part was used for the determination of TI content, the other for that of oil content.

Determination of TI content:

For the determination of TI activity the method of SMETANA, SLAVÍK (1952) in FRANĚK'S (1958) modification was used.

Preparation of TI extract:

The soybean meal was extracted in Soxhlet's apparatus with petroleum ether for 4 hours. Amounts of 0.5 g. of the defatted meal were extracted at laboratory temperature for 60 min. in 8 ml. acetate buffer (pH 4). After centrifuging for 5 min., 1 ml. of the extract was made up to 100 ml. with distilled water.

Preparation of trypsin:

Fifty mg. crystalline trypsin (Organofarma) was dissolved in 50 ml. 0.01N HCl. One ml. of this solution was diluted to 50 ml. with distilled water before incubation so that 1 ml. contained 20 μ g. trypsin. This concentration was found to be most suitable under the given incubation conditions.

Preparation of casein:

Amounts of 3.7 g. casein (Hammarsten) were dissolved in 95 ml. 0.4N NaOH. Six and 25/100 g. boric acid was added to this solution and the volume made up to 250 ml. with distilled water. The pH of this casein solution was 7.8.

Incubation was carried out in a water-bath at 37° C. Thinwalled test-tubes contained 1 ml. TI solution, 1 ml. trypsin and 1 ml. casein. The incubation period was 30 min. After incubation, the remaining casein was precipitated out of the solution with 3 ml. 5% trichloroacetic acid and after 20 min. the precipitated protein was filtered off. To 3 ml. of the filtrate was added 1 ml. 2N NaOH and 2 ml. Biuret reagent. The colorimetric estimation was carried out in the Lange colorimeter using a VG9 filter. For the blank test 3 ml. distilled water, 1 ml. 2N NaOH and 2 ml. Biuret reagent were used. There was no need to take into account the ballast proteins as the extinction of the blank and of the incubated sample without trypsin (replaced with 1 ml. distilled water) was the same. The amount of uninhibited trypsin was given by the amount of undigested casein as read on the calibration curve. The degree of trypsin inhibition was calculated by subtracting the uninhibited trypsin from 20 μ g. (the original amount of trypsin). The TI activity was expressed by the degree of trypsin inhibition multiplied by 100 (the extract was diluted 1 : 100). Two tests were made from each plant.

Acknowledgment

The author wishes to express his thanks to Dr. Franěk, Dr. Pokorný and Dr. Klož (Biological Institute ČSAV) for their suggestions during the course of the experiments and in the preparation of the manuscript.

Results and Discussion

As it was one of the objectives of the present work to clarify the relation between TI and other chemical characters of soybean, both the TI and the oil content were tested. It was assumed that since TI has the character of a protein it will have a positive correlation with the protein content. On the basis of the negative correlation between the oil content and the protein content of soybean (JOHNSON, ROBINSON and COMSTOCK 1955) a hypothesis was propounded that there will be a negative correlation between the oil content and the TI content,

The TI and the oil content found in different varieties and species are shown percentually in Table 1. The variety BG2 was used as standard $\bar{x} =$

Table 1. Percentual expression of the activity of the trypsin inhibitor and the oil content of various varieties and species

Variety, species	Activity of TI	Difference	Oil content	Difference
D. Č.	100.77	0.77	100.73	0.73
BG2	100.00	1.43	100.00	15.96*
Kroměříž	98.57	13.73**	84.04	8.92*
Sioux	84.84	0.13	75.12	0.22
gracilis	84.71	21.24**	74.90	40.15**
uss.	64.47		34.75	

The BG2 variety is used as a standard, $\bar{x} = 1544$ TI activity units, $\bar{x} = 17.61\%$ oil.

* Difference significant, for TI values 3.7%, for oil content values 6.3%.

** Difference very significant, for TI values 5.6%, for oil content values 8.8%.

$= 1544$ TI units and $\bar{x} = 17.61\%$ oil. Analyses of variance showed that the part played by repetitions is insignificant for variability as a whole; the part played by varieties and species, on the contrary, proved to be very significant (see Tables 2 and 3).

The variation coefficient, calculated for the variability within the varieties was higher for TI values (5.99) than for oil values (4.27). This higher variability is caused in great part by methodical errors, as shown by the higher variation coefficient for TI values (0.8) than for oil values (0.38) in analyzing a single sample.

The values found for oil content correspond basically to the data in the literature as far as the relative values are concerned, with the exception of the Kroměříž variety. This variety had an oil content of $\bar{x} = 14.8\%$. On analyzing material cultivated at Kroměříž, an oil content of $\bar{x} = 18.50\%$ was found. Although the analysis was carried out on a mixture of seeds of this variety and although it was not possible to determine the actual variability

Table 2. Analysis of variance (activity of TI)

Source of variability	N	$S(x - \bar{x})$	V	F	s
Varieties, species	3	17625140	5875046	71.857*	
Repetition	2	455040	227520	2.78	
Error	6	490560	81760		285.93
Total	11	18570740			

* very significant

Table 3. Analysis of variance (oil content)

Source of variability	N	S(x — $\bar{x}$)	V	F	s
Varieties, species	3	5938.92	1979.64	75.18*	5.13
Repetition	2	96.14	48.07	1.82	
Error	6	158.02	26.33		
Total	11	6193.08			

* very significant

lity, the highest values of percentual oil content of the material cultivated in Prague did not reach 18.50% (maximum 16.60%).

On preparing TI from the D. Č. variety it could be seen that a part of the melanin from the seed coat was dissolved in the acetate buffer. It was therefore investigated whether this coloration was not the reason for the apparent rise in TI in the colorimetric estimation. In the control test, beans were used without seed coat and thus prepared, tested for activity. A significant difference was found in the TI activity of soybean meal prepared from beans with seed coats and meal from beans deprived of coats. The extract prepared only out of seed coats did not contain TI. This shows that the dissolved melanin did not affect the values found. The difference in TI content was similarly investigated in soybean meal from *G. ussuriensis* with seed coats and without them (see Table 4). Here it was possible to peel off the seed coat in only 50%, as compared with the variety of D. Č. where the seed coat peeled off completely. Low values of TI activity in the case of *G. ussuriensis* can be explained partly by the fact that the ratio between the seed coats and other parts of the beans was greater than in *G. hispida* and *G. gracilis*.

The correlation between oil content and the TI activity within the BG2 and D.Č. varieties was insignificant:

$$\begin{aligned} \text{variety BG2:} \quad r \pm 3s_r &= 0.0559 \pm 3 \cdot 0.596 \\ t(28) &= 0.09 \quad P > 0.90 \end{aligned}$$

Table 4. The difference between the activity of TI in soybean meal with seed coats and without them

Variety, species	The difference is very significant in both cases		
	Soybean meal without seed coats $\bar{x} \pm 3s_{\bar{x}}$	Soybean meal with seed coats $\bar{x} \pm 3s_{\bar{x}}$	Difference
D. Č.	1618 $\pm$ 3. 5.82	1579 $\pm$ 3. 4.48	$t(8) = 5.14$ p 0.01
uss.	1036 $\pm$ 3. 11.75	960 $\pm$ 3. 10.37	$t(8) = 4.97$ p 0.01

$$\begin{aligned} \text{variety D. Č.:} \quad r \pm 3s_r &= 0.0246 \pm 3.0.586 \\ t(28) &= 0.04 \quad P > 0.90 \end{aligned}$$

The correlation between average values of varieties and species is very significant:

$$\begin{aligned} r \pm 3s_r &= 0.97 \pm 3.0.1212 \quad P < 0.01 \\ b_x \pm 3s_{b_x} &= 0.0184 \pm 3.0.0029\% \text{ oil/TI unit} \quad P < 0.01 \\ b_y \pm 3s_{b_y} &= 51.71 \pm 3.26.47 \text{ TI units/\% oil} \quad P > 0.10 \end{aligned}$$

The difference between the significance in the correlation among varieties and species and the lack of significance within the varieties and species can be explained by the fact that in calculating the correlation between the varieties and species, average values were used which diminished the influence of methodical errors. On calculating the correlation within the varieties the methodical error was possibly so great and the number of analyses so small that a correlation could not be established. The lack of significance in correlation within varieties can also be caused by high variability which masks the existing genotypic correlation. This, however, would not be in accordance with the findings (WEBER and WOORTHY 1952) that in soybeans the genotypic correlation is higher than the phenotypic one in the majority of characters. Authentic conclusions could only be reached if a genetic analysis were carried out and values determined for a genotypic and a phenotypic correlation.

In generalizing the results we must, in view of the low number of tested varieties and species, take the strikingly high value of the correlation coefficient with certain reserve. If correlation had been calculated only within the varieties of *G. hispida*, it would probably not have been so high, nevertheless, such a high correlation is rather surprising.

According to its oil content and TI activity the material tested can be divided into three groups:

- a) with high oil content and TI activity — BG2, D. Č, Kroměříž;
- b) with average TI activity and low oil content — Sioux, *G. gracilis*;
- c) with low TI activity and minute oil content — *G. ussuriensis*.

These groups correspond to the 3 examined species: *G. hispida*, *G. gracilis*, *G. ussuriensis*, only the Sioux variety belongs to the *G. gracilis* group as far as its chemical characters are concerned but it belongs to *G. hispida* morphologically.

The original hypothesis that there is a positive correlation between the oil content and the TI activity was proved to be false.

References

- BLOCK, R. J., MITCHELL, H. H.: The correlation of the amino acid composition of proteins with their nutritive value. — Nutrition Abstracts & Revs, **16**, 249—278, 1946.
 BOWMAN, D. E.: Fractions derived from soybeans and navy beans which retard the tryptic digestion of casein. — Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **57** : 139—140, 1944.

- EVANS, R. J., MCGINNIS, J., JOHN, J. L. S.: The influence of autoclaving soybean oil meal on the digestibility of proteins. — *J. Nutrition* **33** : 661—672, 1947.
- EVERSON, G. J., STEENBOCK, H., ADERQUIST, D. C., PARSONS, H. T.: The effect of germination, the stage of maturity and the variety upon the nutritive value of soybean protein. — *J. Nutrition* **27** : 225—229, 1944.
- FRANĚK, F.: Moist heat denaturation of soybean proteins. — *J. Sci. Ind. Res. (India)* **75**—80, 17C, 1958.
- GAITONDE, M. K., SOHONIE, K.: The occurrence of a trypsin inhibitor in field bean (*Dolichos lablab*) and in a few other common Indian pulses. — *J. Sci. Ind. Res. (India)* **11B** : 339—341, 1952.
- GICHNER, T.: Trypsin inhibitor u soji. (Trypsin inhibitor in soybean). — Diss. Biological Faculty, Praha, 1959.
- HAM, W. E., SANDSTEDT, R. M.: A proteolytic inhibiting substance in the extract from unheated soybean meals. — *J. Biol. Chem.* **154** : 505—506, 1944.
- JOHNSON, H. W., ROBINSON, H. F., COMSTOCK, R. E.: Genotypic and phenotypic correlations in soybeans and their implications in selection. — *Agronomy J.* **47** : 477—483, 1955.
- KUNITZ, M.: Crystalline soybean trypsin inhibitor. — *J. Gen. Physiol.* **29**, 149/154 — 1946.
- KUNITZ, M.: Crystalline soybean trypsin inhibitor. II. General properties. — *J. Gen. Physiol.* **30** : 291—310, 1947.
- KUNITZ, M.: Isolation of a crystalline protein compound of trypsin and of soybean trypsin-inhibitor. — *J. Gen. Physiol.* **130** : 311—330, 1947.
- LIENER, I. E., PALLANASCH, M. J.: Purification of a toxic substance from defatted soybean flour. — *J. Biol. Chem.* **197** : 29—36, 1952.
- MITCHELL, H. H., BLOCK, R. J.: Some relationship between the amino acid contents of proteins and their nutritive values for the rat. — *J. Biol. Chem.* **163** : 599—620, 1946.
- SLAVÍK, K., SMETANA R.: Stanovení aktivity proteolytických enzymů biuretovou reakcí. [The estimation of proteolytic enzymes by the biuret reaction.] — *Chem. Listy* **46** : 649—650, 1952.
- SOHONIE, K., AMBE, K. S.: Crystalline inhibitors of trypsin from potato. — *Nature* **176** : 972, 1955.
- WEBER, C. R., WOORTHY, B. R.: Heritable and nonheritable relationships and variability of oil content and agronomic characters in the F_2 generation of soybean crosses. — *Agronomy J.* **44** : 202—209, 1952.

Т. Гихнер (Отдел физиологии и физиологической генетики растений, Биологический институт ЧСАН, Прага)

Активность трипсин-ингибитора в семенах некоторых сорт и видов сои и корреляция между активностью трипсин-ингибитора и содержанием жира.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) **3** (4) : 305—311, 1961

1. Установлена высокая положительная корреляция между активностью трипсин-ингибитора и содержанием жира у отдельных сортов и видов.
2. Корреляция между активностью трипсин-ингибитора и содержанием жира в пределах отдельных сортов не является достоверной.
3. Оболочка семени не содержит трипсин-ингибитор.
4. По активности трипсин-ингибитора и содержанию жиров возможно изученные формы разделить в три группы, отвечающие изученным видам: *Glycine hispida*, *Glycine gracilis* и *Glycine ussuriensis*. Исключение составляет сорт Sioux, который по изученным химическим свойствам принадлежит в диапазон *G. gracilis*, хотя морфологически принадлежит к *G. hispida*.

The Effect of Decreasing Soil Moisture on the Water Relations of Sunflower Seedlings

JIRÍ ŮLEHLA*

Institute for Fodder Research, Czechoslovak Academy
of Agricultural Sciences, Pohořelice

Received January 26, 1961

Vliv klesající vlhkosti zeminy na vodní provoz klíčících rostlin slunečnice

Na klíčících rostlinách slunečnice, kultivovaných ve zkumavkách za laboratorních podmínek, sledoval jsem v závislosti na postupném poklesu vlhkosti zeminy vlivem transpirace a výparu intenzitu kořenového krvácení, okamžitý vodní deficit děloh, konečný vodní deficit děloh (před stanovením deficitu byly zkumavky s rostlinami přeneseny na 24 hodin do prostředí nasyceného vodními parami), čerstvou váhu rostlin, obsah sušiny děloh a postup vadnutí.

Maximální kapilární kapacita použité zeminy byla 29,5 % suché váhy zeminy, bod trvalého vadnutí ležel při 8 %, bod konečného nulového vodního deficitu při 10 % a bod nulového kořenového krvácení při 13 % vlhkosti použité zeminy.

Z uvedených čísel vyplývá, že téměř jedna čtvrtina vody z celkového rozmezí mezi bodem trvalého vadnutí a mezi maximální kapilární kapacitou je pro kořenové krvácení klíčících rostlin slunečnice nedostupná.

Porovnání různých fyziologických ukazatelů dostupnosti vody pro klíčící rostliny slunečnice ukázalo, že kořenové krvácení je citlivým ukazatelem při vlhkostech nad bodem nulového kořenového krvácení, kdy vodní deficit vykazuje poměrně malé rozdíly.

Summary

Sunflower seedlings cultivated in test-tubes under laboratory conditions were used for the investigation, with respect to the gradual decrease of soil moisture due to transpiration and evaporation, of the intensity of root bleeding, the actual water deficit of cotyledons, the 24-hour water deficit of cotyledons (before estimating the deficit the test-tubes with plants were transferred

* Address: Brno, Švancarova 35.

for 24 hours to water-saturated atmosphere), the fresh weight of plants, the dry weight of cotyledons and the process of wilting,

The maximum capillary capacity according to Novák—a laboratory estimate of field capacity—of the soil used amounted to 29.5% soil dry weight, the point of permanent wilting was at 8%, the point of zero 24-hour water deficit was at 10% and the point of zero root bleeding was at 13% of moisture of the soil used.

It follows from the above data that practically one-fourth of the water from the overall range between the point of permanent wilting and the maximum capillary capacity is unavailable for root bleeding of sunflower seedlings.

A comparison of various physiological indicators of availability of water for sunflower seedlings has shown that root bleeding represents a sensitive indicator at moisture values above the point of zero root bleeding when the water deficit exhibits only small differences.

Introduction

There is no uniformity of views concerning a number of fundamental problems dealing with the relationship between the plant and soil moisture, and the aerial environment (RUSSEL 1959). This holds especially for the question whether the plant has sufficient water for growth over the entire range of soil moisture values between the point of permanent wilting (PWP) and the field capacity (FC). According to earlier assumptions soil water above the PWP is considered as freely available to the plant (VEIHMEYER 1956). STANHILL (1957), however, has reached the conclusion based on an analysis of the data of 80 papers quoted, that in 80% cases the experimental plants reacted to differences in soil moisture even within the range given by PWP to FC. STOLZY and ERICKSON (1959) maintain therefore that in order to estimate the lower limit of irrigation it would be necessary to proceed from a value different from that determined by the point of permanent wilting and suggest the term "lower turgor pressure percentage" determined for the given soil by means of Richard's pressure membrane apparatus at a pressure of 5 bar. The above authors found that the value of soil moisture arrived at in this way is practically identical with that obtained with the aid of the method of BREAZEALE and MCGEORGE (1949) by which the percentage of soil moisture is determined which is reached in a soil sample through the action of adventitious roots of *Solanum lycopersicum* L. plants, sufficiently supplied with water via the main root system.

STOLZY and ERICKSON have thus gone practically the same way as earlier authors who used root bleeding as a physiological indicator of water availability for a plant. McDERMOTT (1945) showed in pot experiments that root bleeding stops when the soil moisture drops to a value corresponding to about 60% of the entire range between PWP and FC. FILIPPOV (1954, 1956) worked under field conditions and studied the root bleeding of the cotton plant with the aim of establishing a relationship between the intensity of

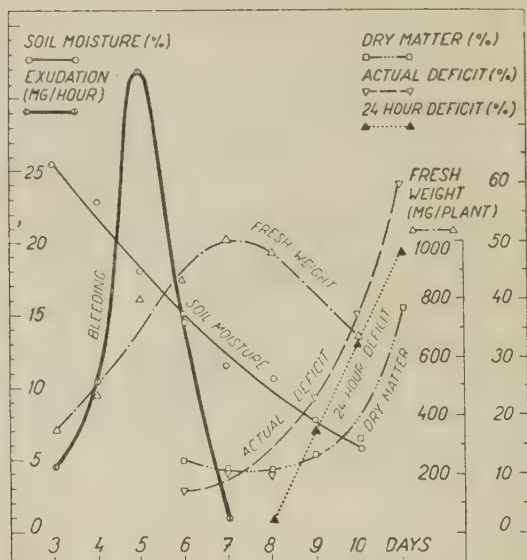


Fig. 1. x shows time in days, y the soil moisture (in weight %) $\circ$ — $\circ$, root bleeding (mg./hr.) $\circ$ — $\circ$, fresh weight of whole plants (mg.) $\triangle$ — $\triangle$, actual water deficit of cotyledons CA (%) ∇ — ∇ , 24-hour water deficit of cotyledons CB (%) $\blacktriangle$ — $\blacktriangle$, cotyledon dry weight (%) $\square$ — $\square$.

root bleeding and the osmotic pressure of the leaf cell sap. He called attention to the fact at the same time that root bleeding can change from positive to negative values within a day, apparently in agreement with the diurnal transpiration process.

On the basis of the above findings it appeared to be useful to carry out

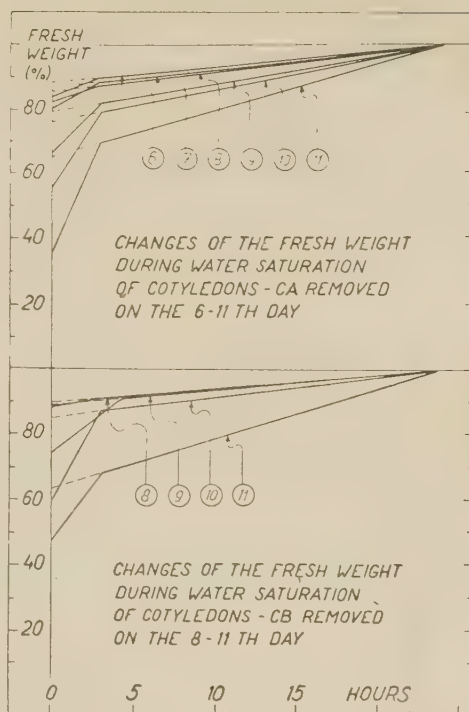
a model laboratory experiment in which some of the physiological indicators of water saturation of plants, including the root bleeding would be investigated in relationship to the natural drying of soil. Such an experiment should also produce auxiliary data for the elucidation of the findings obtained in studying the root bleeding of lucerne and soya beans under field conditions, which are to be published later.

Material and Methods

Commercial sowing material of sunflower (*Helianthus annuus* L.) used in the production lots of this Institute in 1960 was employed in the experiments. The seeds were rather non-uniform. After pre-germination in sawdust the plants were grown freely in the laboratory in test-tubes of 13 mm. internal diameter, filled up to 1 cm. below the rim with freely strewn fraction of 1–2 mm. grain of medium heavy, clayey soil of the chernozem type, in 16–21 g. amounts. The maximum capillary capacity according to Novák (KLIKA, NOVÁK and GREGOR 1954) amounted to 29.5% (referred to the dry weight). Each test-tube was weighed and irrigated with 6 ml. water. In the course of the experiment, i.e. beginning on the third, up to the eleventh day, a part of the test-tubes were removed to determine root bleeding, water deficit etc. The total weight of the test-tubes including soil and plant was always determined, making it possible, after subtraction of the empty tube weight and of the fresh plant weight (including the leached roots), to calculate the actual water content of the soil. After weighing the test-tubes with plants intended for measurements the state of the plants was assessed visually and one of the cotyledons (CA) was removed for the determination of the actual water deficit. With plants 8 to 11 days of age the test-tubes containing plants deprived of one of the cotyledons were transferred for 24 hours to water-saturated atmosphere. After 24 hours a new visual assessment of the state of the plants was made and the remaining cotyledon was removed (CB) to estimate the 24-hour water deficit. The two determinations of the water deficit represent an objective analogy to the determination of the PWP (VEIHMEYER 1956).

Water deficit was estimated on the basis of evaluation of the course of saturation of complete cotyledons with water (Fig. 2). It follows from the shape of the curves that in the CA cotyledons of plants of more than 8 days old and in the CB cotyledons of plants more than 9 days old the

Fig. 2. x shows time in hours, y the weight of cotyledons in % fresh weight after 24 hours of saturation with water. The figures at the individual curves indicate the age of plants on the day of removing the CA cotyledon. The upper part of the graph refers to the CA cotyledons saturated with water immediately, the lower part refers to the CB cotyledons removed from plants transferred for 24 hours to water-saturated atmosphere.



initial phase of rapid water uptake lasts for more than 3 hours. The extrapolated initial weight of the fully turgescient organs, required for the calculation of the deficit was determined by subtracting one-tenth from the average fresh weight of the cotyledons as estimated after 24 hours of saturating with water. This correction for growth (ČATSKÝ 1959) was derived from the slope of the second limb of the saturation curves for the CB cotyledons of 8-day-old plants where, thanks to the low water deficit, the slope of the second limb of the saturation curves was not affected by the initial phase of rapid uptake.

Root bleeding was investigated with the aid of coloured strips of filter paper 10 mm. in width and 100 mm. in length placed into the split of the decapitated stem apex and protected from desiccation by means of a test-tube sealed with soft plastic (ŮLEHLA).

The wilting and drying of plants was evaluated according to the following scale: 0 — fully turgescient plant, 1 — first symptoms of wilting, 2 — axis bent to about 90°, 3 — cotyledons and axis completely pendant, 4 — first symptoms of desiccation, 5 — dry plant.

Results

The results of the experiment are summarized in Table 1 and in Fig. 1.

Soil moisture decreased in the course of the experiment relatively regularly. The growth of plants evaluated on the basis of fresh weight increment stopped after 7 days. A retardation of growth may thus be assumed to set in on about the 6th day of the experiment. During the same period a marked drop in the intensity of root bleeding was observed, the bleeding ceasing completely on the 7th day. An independent experiment revealed that irrigated plants exhibited no such decrease of root bleeding. On the 9th day, when the dry weight began to rise in the cotyledons, a marked increase of the actual as well as 24-hour water deficit could be observed, accompanied by the first symptoms of wilting. On the 10th and 11th day the wilting changed to typical desiccation accompanied in some cases by death of the plant.

The curves shown in Fig. 2 indicate the course of saturation of cotyledons with water expressed as percentage of the weight attained by the cotyledons

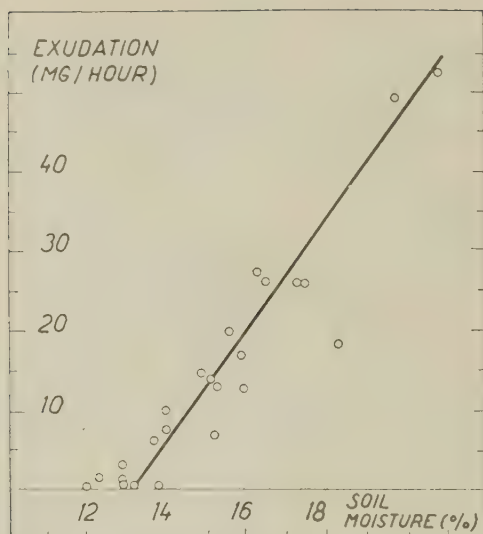


Fig. 3. x shows soil moisture in % dry weight, y the root bleeding (mg./hr.) referred to 100 mg. dry weight of roots.

after 24 hours of saturation. The decrease in soil moisture due to transpiration and evaporation is reflected in the gradual rise of the initial deficit in dependence on plant age. The initial deficit of the CA cotyledons, i.e. of those saturated with water immediately, is in all cases greater than the deficit of

the CB cotyledons, i.e. of those removed from plants which, with one cotyledon removed, were transferred for 24 hours to water-saturated atmosphere.

Discussion

It follows from Table 1 that there is a considerable dispersion of some of the values. This is due, particularly in the case of root bleeding, to the differences in soil moisture, as may be seen in Fig. 3. This figure shows the intensity of root bleeding of the individual plants (5 to 7 days old) referred to 100 mg. fresh root weight, in dependence on soil moisture. Figs. 1 and 2 show clearly that in the case of sunflower seedlings root bleeding represents a sensitive indicator of soil moisture. The close relationship between the two values makes it possible to draw a straight line through the points of Fig. 3. Its intercept with the x -axis indicates that under the given experimental conditions the intensity of root bleeding dropped in an average plant to zero when the soil moisture was 13%. This value represents thus the point of zero bleeding for the soil used. At this moisture the plants appeared quite fresh and their actual water deficit (cf. Fig. 1) changed very little at that moisture value. A marked rise of the 24-hour water deficit may be observed only when the soil moisture drops below 10%. In analogy to the point of permanent wilting this value of soil moisture can be designated as the point of zero 24-hour water deficit. The point of zero 24-hour water deficit corresponds to the lowest 24-hour water deficit of the soil at which the experimental plants reach full turgescence and thus zero water deficit in 24 hours. The point of permanent wilting, the determination of which is affected by a considerable error with sunflower seedlings appears to lie in the vicinity of 8% moisture. (The PWP could be determined with a greater degree of objectivity by inter-

pulation to a given value of the 24-hour water deficit. For young sunflower plants grown in test-tubes the PWP might be defined e.g. by a 15% deficit of the cotyledons.)

It follows from the experiments with a root bridge (SÍTAŘ 1957) that the water deficit and very likely also other closely connected parameters (refraction, osmotic pressure of cell sap, capillary tension of the tissues, transpiration etc.) respond very sensitively to variable weather conditions which is a drawback from the point of view of estimating the availability of soil moisture for plants. The average rate of uptake of soil water by the plant (and thus also the other above-mentioned parameters) does not change very much according to VEIHMEYER when the soil moisture decreases from the FC to the vicinity of the PWP.

VEIHMEYER explains this on the basis of the energy state of water in the system of soil-plant-atmosphere as being due to a rapid characteristic decrease of water free energy at the boundary of the leaf and atmosphere, in comparison with which the difference in the free energy of water in the soil and in the root system is negligible.

The water deficit and the related physiological parameters cannot thus be used in all cases for the sufficiently early determination of a critical drop of soil moisture. In spite of this, the above parameters can be of considerable economic significance, if their application is to serve an immediate adjustment of atmospheric humidity on the one

Table 1.

Age of plant (days)	Number of plants	Soil moisture (% dry wt.)	Plant fresh weight	Root bleeding (mg. per hour)	Actual water deficit (%)	24-hour water deficit (%)	Actual degree of wilting	24-hour degree of wilting	Dry wt. of cotyledons (% fresh wt.)
3	6	25.4 ± 1.2*)	352 ± 26	4.5 ± 0.9	7.2				12.3 ± 1.1
4	5	22.8 ± 1.3	472 ± 29	10.4 ± 1.7	10.5				10.8 ± 0.9
5	6	18.1 ± 0.8	804 ± 44	31.8 ± 5.0	9.6			0	10.6 ± 1.0
6	16**)	14.5 ± 0.4	867 ± 40	15.0 ± 4.4	25.4	2.0	0	1.2	13.5 ± 2.0
7	4	11.5 ± 0.7	1010 ± 60	<1	37.7	17.2	1.7	1.8	16.0 ± 1.0
8	5	10.6 ± 0.8	962 ± 35		60.2	32.7	1.8		38.5 ± 5.7
9	4	7.6 ± 0.5				48.2	4.1	4.1	
10	6	5.8 ± 0.2	671 ± 69						
11	9								

$$*) \text{ standard error } s_x = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

**) actual water deficit and dry weight of cotyledons were determined for 10 plants only

hand, or the prevention of harvest losses due to damage to plants caused by permanent lack of soil moisture on the other.

Root bleeding represents, in contrast to the water deficit, above all a sensitive indicator of the seemingly negligible difference in the energy state of soil water and plant water. Laboratory experiments on young sunflower plants yield a linear relationship between the intensity of root bleeding and soil moisture in a range of 13—21% moisture. The above upper limit corresponds to 60% water of the entire range between the PWP and the maximum capillary capacity according to Novák, being at 29.5% moisture for the given soil. These figures indicate that three-fifths of the so-called freely available water are available to the plant from the point of view of root bleeding with increasing difficulty as the soil moisture decreases and that almost one-fourth of the water (8—13%) is completely unavailable.

Root bleeding could serve as a timely indicator of decreasing water availability for plants as shown by FILIPPOV and McDERMOTT. The reason why this method has not found wide application seems to be connected with the fact that in its classical arrangement, i.e. when the movement of a liquid in a capillary is studied, it is relatively laborious and little efficient. This shortcoming is removed by the technique of measuring strips. Even this technique, however, will not remove the other disadvantages, such as the difficulty of quantitative evaluation of root bleeding or the interference of competition for water among the individual axes of plants with more axes or stalks (ÚLEHLA 1960). It must also be borne in mind that with higher soil moisture values no linear relationship holds between soil moisture and intensity of root bleeding (McDERMOTT).

It follows from the results of laboratory experiments that under field conditions, when the availability of soil moisture to plants is studied, a physiological indicator has to be chosen which is most suitable for the given conditions: root bleeding most of all for medium soil moistures, water deficit or another closely related indicator for low moistures. In any case, the biological characteristics of the plant species tested must be taken into account.

References

- BREAZEALE, E., McGEORGE, W. T.: A new technic for determining wilting percentage of soil. — *Soil Sci.* **63** : 371—374, 1949.
- ČATSKÝ, J.: The role played by growth in the determination of water deficit in plants. — *Biol. Plant.* **1** : 277—286, 1959.
- KLIKA, J., NOVÁK, V., GREGOR, A.: *Praktikum fytoecologie, ekologie, klimatologie a půdoznalství*. [Laboratory course in phytocoenology, ecology, climatology and pedology.] — Nakladatelství Československé akademie věd, Praha 1954.
- McDERMOTT, J. J.: The effect of the moisture content of the soil upon the rate of exudation. — *Amer. J. Bot.* **32** : 570—574, 1945.
- RUSSEL, M. B.: Plant responses to differences in soil moisture. — *Soil Sci.* **83** : 179—183, 1959.
- SÍTAŘ, J.: Studium vodního hospodářství rostlin metodou kořenového mostu. [A study of water relations of plants by means of root bridge.] — *Bulletin VÚZ ČSAZV Olomouc* **1** : 17—27, 1957.
- STANHILL, G.: The effect of differences in soil moisture status on plant growth: a review and analysis of soil moisture regime experiments. — *Soil Sci.* **84** : 205—214, 1957.

STOLZY, L. H., ERICKSON, A. E.: A soil suction value associated with moisture levels adjusted by the adventitious root technic. — *Soil Sci.* **83** : 77—79, 1959.

ÚLENLA, J.: Kořenové krvácení jako kritérium celistvosti rostliny. [Root bleeding as a criterion of plant totality.] — *Vědecké práce VÚK ČSAZV*, in Press.

VEHNMEYER, F. J.: Soil moisture. — *Ruhland's Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Bd. III, Pflanze und Wasser. Springer Verlag, Berlin 1956.

Филиппов Л. А.: Физиологическое обоснование момента полива хлопчатника. — *Изв. Тимирязевской с. х. акд.* **6** : 129—136, 1954. [Filipov, L. A.: Physiological determination of cotton-plant irrigation.]

Филиппов Л. А.: К вопросу о критической для растений влажности почвы в связи с суточными изменениями плача хлопчатника. — *Докл. АН СССР* **106** : 145—147, 1956. [Filipov, L. A. On the problem of the critical soil moisture for plants in connection with diurnal changes of cotton-plant bleeding.]

Иржи Улегла (Н.-и. инст. кормов ЧСАСХН, Погоржелице)

Влияние понижающейся влажности почвы на водный режим семян подсолнечника.

BIOLOGIA PLANTARUM (PRAHA) 3 (4) : 312—319, 1961

Автор исследовал интенсивность корневого плача, наличный водный дефицит семядолей, конечный водный дефицит семядолей (после 24-часового пребывания растений в среде, насыщенной водяным паром), сухой вес растений, сухой вес семядолей и ход завядания (график № 1) в зависимости от постепенного падения почвенной влаги вследствие транспирации и испарения. Опыты проводились в лабораторных условиях, на семенах подсолнечника, выращиваемых в пробирках.

Предельная капиллярная влагоемкость использованной почвы составляла 29,5% от сухого веса. Точка длительного завядания находилась около 8%, точка конечного (нулевого) дефицита около 9% и точка нулевого корневого плача около 13% влажности использованной почвы.

Из приведенных данных вытекает, что почти четвертая часть из общего количества почвенной влаги между точкой длительного завядания и предельной капиллярной влагоемкостью почвы оказывается недоступной для корневого плача семян подсолнечника.

Сравнивая разные физиологические индикаторы доступности почвенной влаги для семян подсолнечника, автор показывает, что корневой плач является чувствительным индикатором, применимым при почвенной влажности выше точки нулевого корневого плача, когда различия в водном дефиците являются относительно небольшими.

BIOLOGIA PLANTARUM — Published for The Biological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences (Praha 6-Dejvice, Na cvičišti 2, dod. pú. 6) by The Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences (Praha 1-Nové Město, Vodičkova 40, dod. pú. 1). 4 issues a year. — Annual subscription Kčs 30,—, \$ 3,20, £ 1, 2, 10. Single copies Kčs 7,50. — Printed by Knihtisk, n. p. závod 4 (Praha 10-Vršovice, Sámova 12, dod. pú. 101). — Orders from abroad should be addressed to: ARTIA, Praha 1-Nové Město, Ve Smečkách 30, dod. pú. 1. — Distributed by The Newspaper Mail Service — This number has been issued in October 1961.

© BY NAKLADATELSTVÍ ČESKOSLOVENSKÉ AKADEMIE VĚD 1961

„БИОЛОГИЯ ПЛАНТАРУМ“ — орган Института биологии Чехословацкой АН, На Цвечишти 2, Прага 6-Дейвице, п/о 6, Издательство Чехословацкой АН, Прага 1-Новое Место, Водичкова 40, п/о 1. Журнал выходит 4 раза в год. Подписная цена на год: Кчс 30,—, \$ 3,20, £ 1, 2, 10. Цена отдельного номера Кчс 7,50. Печатается в типографии 4 нац. предприятия „Книгтиск“, Прага 10-Вршовице Сомова 12, п/о 101. Заказы из-за границы: „АРТИА“, Прага 1-Новое Место, Сметчки 30, п/о 1. — Распространяет „Почтовни и новинова служба“ (Почтовая журнальная служба.) — Настоящий номер выпущен в октябре 1961 г.

Časopis pro experimentální botaniku
Journal for Experimental Botany
Журнал экспериментальной ботаники
Zeitschrift für experimentelle Botanik

BIOLOGIA PLANTARUM (Journal for Experimental Botany) publishes original scientific papers and brief communications from the fields of plant physiology, experimental ecology, genetics, cytology, experimental morphology, biochemistry and pathology. Articles are published in the most important languages. The authors bears the full responsibility for the originality of the paper submitted. Only such contributions will be accepted which contain original results not submitted for publication elsewhere. All contributions are subject to a consideration by the referees and by the Editorial board. The author must give serious consideration to the referees' comments. The original copy and the first carbon copy along with original illustrations and tables should be sent to Dr. Bohdan Slavík, Biologický ústav ČSAV, Praha 6, Na cvičišti 2, Czechoslovakia.

Papers should be in double-spaced typing throughout, i.e. including footnotes, figure legends, tables and references. Each table, figure legends and references should be typed on a separate sheet of paper. The length of a paper should not exceed 10 printed pages, including figures, tables and references, one printed page being approximately equal to two double-spaced typewritten ones (foolscap size). In arranging the manuscript and the references attention should be paid to the usage of recent editions of **BIOLOGIA PLANTARUM**. In addition to the author's name his full present address should appear. A summary in Czech, written as a self-contained abstract (objective of the work, short account of methods and material, results and conclusions) will precede the text of each paper. The length of the abstract should never exceed 20 type-written lines. Its text will also be sent by the editors to foreign abstracting journals. Foreign authors shall submit the abstract in the language of the paper.

Each paper should be introduced by a concise Summary, including an account of new findings. This summary, including its translation placed at the end of the paper, should not exceed 60 type-written lines. The following Introduction should be quite brief and include the presentation of the problem to be investigated. Only those papers may be quoted which are in direct contact with the submitted contribution, not those of historical interest only. Scientific latin names (always with authority) and names of persons should not be specially marked by the author in the manuscript. If the author has any suggestions as to the size or species of type (garmond, petit etc.) he should make a note on the margin of the sheet. The final decision shall be made by the editors.

Tables must be arranged and described in such a way that they be comprehensible without referring to the text. Each table should bear a number and a title.

Diagrams should be in Indian ink and drawn on Bristol board or tracing cloth, surrounded by a frame and should have the following sizes: length of the base 12 cm., diameter of experimental points 3 mm., or length of the base 18 cm., diameter of points 4 mm. The text should only be given in pencil. Figure captions and legends should be typed separately.

Photographs should be printed on glossy paper and should be in sharp focus with good contrast. The author's name, the figure number and the top of the figure should be indicated on the reverse side of all illustrations.

References in text should contain author's name followed by the year of publication, e.g. Björn and Virgin (1958), or (Björn and Virgin 1958). References at the end of the paper should be arranged alphabetically as follows:

Björn, L. O., Virgin, H. I.: The influence of red light on the growth of pea seedlings. An attempt to localize the perception. — *Physiol. Plant.* 11 : 363—373, 1958.

In quotations of papers in Russian alphabet which shall be arranged separately according this alphabet the author's name, the journal and the title of the paper shall appear also in corresponding transliteration and a translation of the title shall be attached. If the original paper has already a foreign-language summary, the author is requested to give its title.

Знаменский, И. Е.: Физиологическая и биохимическая характеристика ксерофитов. — *Экспер. ботаника* 6 : 93—146, 1948. [Znamensky, I. E.: Physiological and biochemical characteristics of xerophytes.]

Similarly, quotations of papers published in less common languages shall be provided with a translation of the paper title in addition to the original.

The author receives one or two proofs of his paper. The manuscript is held to represent the final text of the paper, the proofs serving only to correct typographical errors. The proofs must be returned within two days, otherwise the author's corrections cannot be considered.

The author may obtain 70 reprints without charge.

INDEX

B. NĚMEC: Über mixoploide Wurzelspitzen	253
М. Долежалова, И. Поздена: К вопросу образования мозаики табака у помидоров при выращивании их в условиях резкого колебания температуры	265
E. HRABĚTOVÁ, J. TUPÝ: Respiration of Apple Pollen on Different Sugar Substrates and the Problem of the Role of Sucrose in Pollen-Tube Growth	270
J. VACKE, V. PRŮŠA: Host Range of Wheat Striate Virus	277 X
J. BRČÁK: Biologische und elektronenmikroskopische Bestimmung der schweren Strichkrankheit der Tomate	285 +
E. KLOZOVÁ, K. ROKOSOVÁ: Anthocyanins of <i>Impatiens holstii</i>	291
J. LIMBERK: Abhängigkeit der Reproduktion des Tabakmosaik-Virus von den Veränderungen der Lage der wachsenden Triebe	297 X
T. GICHNER: The Activity of Trypsin-Inhibitor in Seeds of Some Varieties and Species of Soyabeans and Correlation Between the Activity of Trypsin Inhibitor and Content of Oil	305
J. ŮLEHLA: The Effect of Decreasing Soil Moisture on the Water Economy of Sunflower Seedlings	312

The following papers are being prepared for the next issue:

J. SAHULKA: Free Amino Acids and Amides in the Axial Parts of Apple—Trees and their Relationship to Flower—Bud Initiation
Z. ŠESTÁK, J. BARTOŠ: Photosynthesis and Chlorophyll Content in Different Areas of Fodder Cabbage Leaves
J. NEČAS: The Effect of Suppressors on the Resulting Segregation Ratios of Some Characters of Barley in Higher Hybrid Generations
K. HLUBÝ: Compatibility Relations in some Sweet Cherry Cultivars
K. BENEŠ: A Comparative Study on the Reactions for Protein Sulphydryl Carbocyl and Tyrosine in Plant Nuclei
J. TUPÝ: Radiorespirometric Study on the Utilization of Exogenous Sucrose, Glucose and Fructose by Germinating Apple Pollen
J. KLOZ: An Investigation of the Protein Characters of Four Phaseolus Species with Special Regard to the Question of their Phylogenesis
M. RYCHNOVSKÁ, J. BARTOŠ: Measurement of Photosynthesis by the Dry Weight Increment of Samples Composed of Leaf Segments
J. LUŠTINEC, V. POKORNÁ: Alternation of Respiratory Pathways during the Development of Wheat Leaf
Z. POLÁK, J. BRČÁK: Note of the Specific Difference in the Local Necrotic Respose to Infection by Tobacco Mosaic and Cabbage Black Ringspot Viruses in Tobaccos
J. LUŠTINEC, V. POKORNÁ, J. RŮŽIČKA: Activation of Glycolysis and Inhibition of Glucose Transport into Leaves by Fluoride